



Universidade de Aveiro Departamento de Biologia
Ano 2013/2014

**Filipa Nunes
da Silva**

**Prevalência de pneumonias no Centro Hospitalar de
Leiria, E.P.E**

DECLARAÇÃO

Declaro que este relatório é integralmente da minha autoria, estando devidamente referenciadas as fontes e obras consultadas, bem como identificadas de modo claro as citações dessas obras. Não contém, por isso, qualquer tipo de plágio quer de textos publicados, qualquer que seja o meio dessa publicação, incluindo meios eletrônicos, quer de trabalhos académicos.



Universidade de Aveiro Departamento de Biologia
Ano 2013/2014

**Filipa Nunes
da Silva**

**Prevalência de pneumonias no Centro Hospitalar de
Leiria, E.P.E**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Microbiologia, realizada sob a orientação científica da Doutora Gina Maria Figueiredo Marrão, Assistente de Laboratório do Centro Hospitalar de Leiria e co-orientação do Doutor Artur Jorge da Costa Peixoto Alves, Investigador Principal do Departamento de Biologia e CESAM da Universidade de Aveiro

o júri

presidente

Professora Doutora Sónia Alexandra Leite Velho Mendo Barroso
Professora Auxiliar, Universidade de Aveiro

Professora Doutora Olga Maria Antunes Rodrigues Carvalho Cardoso
Professora Auxiliar, Faculdade de Farmácia de Coimbra

Doutora Gina Maria Figueiredo Marrão
Assistente de laboratório do Centro Hospitalar de Leiria (Orientadora)

agradecimentos

Agradeço à Professora Doutora Gina Marrão, pelo apoio, disponibilidade, partilha de conhecimentos e orientação ao longo de todo o trabalho.

À Doutora Ana Domingos, por todo o auxílio e dedicação.

Ao Centro Hospitalar de Leiria, em especial ao Doutor Ricardo Castro, pelo fornecimento de dados e apoio constante. A todos os elementos do serviço de Patologia Clínica, obrigada pela ajuda na integração e carinho durante todo o meu percurso.

Ao Doutor Artur Alves pela disponibilidade e ajuda.

À minha família, em particular aos meus pais, que sempre me compreenderam, ajudaram e apoiaram incondicionalmente. E por fim, aos meus amigos, pelo carinho e incentivo permanente.

Este trabalho não seria possível sem a vossa ajuda, a todo um sincero obrigado.

palavras-chave

Pneumonia, agentes etiológicos, antibacterianos, resistência aos antibacterianos

resumo

A pneumonia bacteriana é considerada atualmente como um grave problema de saúde pública que tem vindo a aumentar nas duas últimas décadas, sendo a principal responsável pelos elevados casos de internamentos e mortalidade em Portugal.

Uma das principais causas do aumento destas infeções deve-se à prescrição abusiva de antibacterianos, por parte de entidades clínicas, que originam um aumento de resistências e consequente propagação de estirpes bacterianas resistentes.

Uma vez que a microbiota dos doentes difere entre regiões do País e existem poucos dados que reflitam a realidade, cada vez mais será necessário a existência deste tipo de estudos para a possível caracterização microbiológica de cada área geográfica de Portugal. Como tal o objetivo deste trabalho foi caracterizar a população de doentes com pneumonia da região de Leiria, identificar os principais agentes etiológicos e avaliar o padrão de resistência aos antibacterianos testados.

Neste estudo foram usados dados dos exames bacteriológicos de amostras biológicas de pacientes com diagnóstico de pneumonia que deram entrada no Centro Hospitalar de Leiria, E.P.E. (CHL), durante um período de 5 anos, de 2009 a 2013. Foi possível detetar 2945 doentes com o diagnóstico de pneumonia bacteriana, desse total, 1918 (65,5%) doentes eram indivíduos do sexo masculino e 1027 (34,5%) doentes eram indivíduos sexo feminino. A faixa etária que apresentou maior prevalência da doença foram os indivíduos com idades compreendidas entre os 80 e 89 anos (47,9%). Os principais agentes etiológicos responsáveis por esta patologia foram o *Staphylococcus aureus* (24,8%), a *Pseudomonas aeruginosa* (24,1%), a *Klebsiella pneumoniae* (16,4%) e a *Escherichia coli* (8,0%). Pela avaliação dos padrões de resistência para alguns antibacterianos verificaram-se taxas elevadas, contudo não se verificaram grandes evoluções ao longo do tempo de estudo.

keywords

Pneumonia, agent etiology, antibacterial, antibacterial resistance

abstract

Bacterial pneumonia is currently considered a serious public health problem, that has been increasing in the last two decades and it is the main cause of the high number of hospitalization and mortality in Portugal.

One of the main causes that has been increasing the number of infection cases is the abusive prescription of antibacterials that originate resistance and the subsequent resistant strains spread.

Once microbiota patients differ amongst different country regions, still exists few data that reflects reality, studies for microbial characterization of each geographic area of Portugal has become even more important. Thus, the main goal of this work was to characterize the population of patients with pneumonia in Leiria and also identify the main etiology agents and evaluate the resistance pattern to the tested antimicrobial.

In this study were used data from analyzed biological samples diagnosed with pneumonia of patients who gave entrance in Centro Hospitalar de Leiria, E.P.E. (CHL), from a five years period of 2009 to 2013. It was possible to detect 2945 patients diagnosed with bacterial pneumonia, being 1918 (65,5%) male individuals and 1027 (24,5%) female. This disease show a major prevalence in individuals with age from 80 to 89 years old (47,9%). *Staphylococcus aureus* (24,8%), *Pseudomonas aeruginosa* (24,1%), *Klebsiella pneumoniae* (16,4%) and *Escherichia coli* (8,0%) were the main etiology agents causative of this pathology. From the evaluation of this resistance patterns for some antibacterials, it has been found high rates, however, no big evolutions throughout the entire study period were observable.

Índice

Índice de Figuras	iii
Índice de Tabelas	v
Lista de Acrónimos	vi
1. Introdução	1
1.1. Sistema respiratório	4
1.2. Pneumonia	6
1.2.1. Definição e classificação dos diferentes tipos de pneumonia	7
1.3. Diagnóstico	9
1.4. Antibacterianos	10
1.4.1. Mecanismos de ação dos antibacterianos.....	11
1.5. Resistência bacteriana.....	16
1.5.1. Alteração da permeabilidade	17
1.5.2. Alteração do local de ação.....	17
1.5.3. Bomba de efluxo	17
1.5.4. Mecanismo enzimático	18
1.6. Tratamento.....	18
1.6.1. Tratamento para Pneumonia Adquirida na Comunidade	18
1.6.2. Tratamento para Pneumonia Nosocomial.....	19
1.7. Medidas de prevenção de pneumonias	19
2. Objetivo	2
3. Material e Métodos.....	6
3.1. Caracterização do laboratório e período de estudo	8
3.2. Procedimentos laboratoriais	8
3.3. Identificação dos isolados bacterianos e teste de suscetibilidade aos antibacterianos.....	9
3.4. Tratamento de dados	10
4. Resultados	12
4.1. Caraterização clínica da população.....	14

4.2. Caracterização microbiológica da população	17
4.2.1. Amostras biológicas	17
4.2.2. Isolados bacterianos	18
4.2.3. Perfis gerais de resistência aos antibacterianos dos principais isolados bacterianos	21
4.2.4. Evolução dos perfis gerais de resistência aos antibacterianos dos principais isolados bacterianos ao longo do tempo.....	25
5. Discussão	32
5.1. Caracterização da população	34
5.2. Caracterização microbiológica	36
5.3. Perfis gerais de resistência aos antibacterianos testados para os principais isolados bacterianos e sua evolução ao longo do tempo	38
6. Conclusão.....	42
7. Referências bibliográficas	46
8. Anexos	54

Índice de Figuras

Figura 1 - Representação esquemática dos mecanismos de ação dos diferentes grupos de antibacterianos.	12
Figura 2 - Principais mecanismos de resistência aos antibacterianos	16
Figura 3 - Distribuição dos doentes selecionados por sexo e idade.	15
Figura 4 - Evolução dos casos de pneumonia ao longo dos cinco anos de estudo.....	15
Figura 5 - Distribuição mensal dos doentes com pneumonia diagnosticada nos diferentes meses do ano.....	16
Figura 6 - Distribuição anual dos pacientes que apresentavam pneumonia nos três principais serviços.....	16
Figura 7 - Doentes diagnosticados com pneumonia nos diferentes serviços do CHL.....	17
Figura 8 - Tipos de amostras biológicas enviadas para o laboratório de microbiologia.....	18
Figura 9 - Evolução do número de isolados das principais bactérias a partir de amostras biológicas ao longo dos anos de estudo.....	19
Figura 10 - Variação da frequência de bactérias responsáveis por pneumonia por faixa etária durante o período de estudo.	20
Figura 11 - Evolução das bactérias isoladas nas diferentes estações do ano.	21
Figura 12 - Percentagem de isolados <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes aos antibacterianos testados.	22
Figura 13 - Percentagem de isolados <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistentes aos antibacterianos testados.	23
Figura 14 - Percentagem de isolados <i>Klebsiella pneumoniae</i> resistentes aos antibacterianos testados.....	24
Figura 15 - Percentagem de isolados <i>Escherichia coli</i> resistente aos antibacterianos testados.	25
Figura 16 - Evolução da resistência de <i>Staphylococcus aureus</i> aos antibacterianos ao longo dos anos de estudo.....	27

Figura 17 - Evolução da resistência de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aos antibacterianos ao longo dos anos de estudo.....	28
Figura 18 - Evolução da resistência de <i>Klebsiella pneumonia</i> aos antibacterianos ao longo dos anos de estudo.....	29
Figura 19 - Evolução da resistência de <i>Escherichia coli</i> aos antibacterianos ao longo dos anos de estudo.	30
Figura 20 - Abordagem terapêutica ao doente com suspeita de PAC..	57
Figura 21 - Abordagem terapêutica ao doente com suspeita de PN..	58

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Local de ação dos diferentes antibacterianos	13
Tabela 2 - Prevenção de Pneumonias Nosocomial.	20
Tabela 3 - Distribuição ao longo dos anos de estudo dos doentes com pneumonia por sexo.....	14
Tabela 4 - Agentes etiológicos isolados de amostras biológicas nos cinco anos de estudo.	19
Tabela 5 - Critérios CURB-65	56
Tabela 6 - Critérios CRB-65.....	56
Tabela 7 - Composição do meio de cultura gelose columbia + 5% sangue de carneiro.	61
Tabela 8 - Composição do meio de cultura gelose chocolate com IsoVitalex e bacitracina.	61
Tabela 9 - Composição do meio de cultura gelose Cled.....	62

Lista de Acrónimos

Ac Clav	Ácido Clavulânico
ATP	Adenosina Trifosfato
ASP	Aspirado Broncoalveolar
CHL	Centro Hospitalar de Leiria
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CURB-65	Confusão, Ureia, Respiração, Pressão Sanguínea, Idade> 65 anos
CRB-65	Confusão, Respiração, Pressão Sanguínea, Idade> 65 anos
DHFR	Dihidrofolato reductase
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica
EARS	European Antimicrobial Resistance Surveillance
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
LBA	Lavado Broncoalveolar
MC	Membrana Citoplasmática
CMI	Concentração Mínima Inibitória
MMR	Microrganismo Multirresistente
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> Meticilina Resistente
MSSA	<i>Staphylococcus aureus</i> Meticilina Sensível
NAM	Ácido N-acetilmurâmico
NK	Natural Killer
OMS	Organização Mundial de Saúde
ONDR	Observatório Nacional de Doenças Respiratórias
PABA	p-aminobenzóico
PAC	Pneumonia Adquirida na Comunidade
PACS	Pneumonia Associada aos Cuidados de Saúde
PAV	Pneumonia Associada ao Ventilador
PBPs	Penicilin Binding Protein
PN	Pneumonia Nosocomial

RNA	Ácido Ribonucleico
RNA^t	RNA de transferência
RNA^m	RNA mensageiro
SMI	Serviço de Medicina Intensiva
TSA	Teste de Sensibilidade aos Antibacterianos
UCI	Unidade de Cuidados Intensivos
UCEP	Unidade de Cuidados Especiais Pediátricos
UE	União Europeia
UICD	Unidade de Internamento de Curta Duração
VISA	<i>Staphylococcus aureus</i> Vancomicina resistência Intermédia
VRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> Vancomicina Resistente

1. Introdução

No amplo espectro das patologias infecciosas, a pneumonia bacteriana é considerada atualmente como um problema de saúde pública em ascensão, representando uma das principais causas de hospitalização e morbimortalidade, em Portugal (1-3).

É uma infeção que afeta o trato respiratório inferior, em ambos os sexos, e incide principalmente em pacientes a partir dos 65 anos de idade. Ocorre tanto na comunidade, como em meio hospitalar (2,3). Os custos associados ao tratamento desta patologia são elevados e cada vez será mais difícil a sua resolução devido à ineficácia dos antibacterianos existentes (3).

Uma das principais causas do aumento destas infeções deve-se à prescrição de antibacterianos abusiva e inadequada, por parte de entidades clínicas, que originam um aumento de resistências e consequente propagação de isolados bacterianos resistentes. Esta resistência aos antibacterianos ocorre quando estes perdem a capacidade de controlar o crescimento ou a morte bacteriana, ou seja, é a forma que as bactérias encontram para neutralizar o efeito do antibacteriano adquirido (4,5).

É fundamental haver um diagnóstico precoce, uma rápida identificação do agente etiológico responsável pela infeção e conhecer o seu perfil de suscetibilidade aos antibacterianos para que haja um tratamento adequado e eficaz. Consecutivamente, a antibioterapia deverá ser reavaliada com base na resposta clínica do doente e nos dados microbiológicos laboratoriais, procedendo-se à sua suspensão caso não se confirme a infeção, ou à alteração para um antibacteriano de espectro reduzido ou, ainda, à redução da sua duração, de modo a evitar o consumo excessivo de antibacterianos e o aparecimento de microrganismos multirresistentes (MMR) (6).

Uma vez que a microbiota dos doentes difere entre regiões do País e existem poucos dados que reflitam a realidade, cada vez mais será necessário este tipo de estudos para a possível caracterização microbiológica de cada área geográfica de Portugal e do mundo (6). No seguimento de outros países que elaboraram documentos de recomendações adaptadas à sua realidade, para o tratamento e controlo das patologias infecciosas, a Sociedade Portuguesa de Pneumologia, decidiu criar documentos de consenso sobre as pneumonias com algumas recomendações adaptadas ao País (6,7).

1.1. Sistema respiratório

O sistema respiratório é constituído pelo trato respiratório superior e inferior, que são diferenciados na condução, nos dois sentidos, da troca de gases entre o meio ambiente e as unidades respiratórias terminais. O trato respiratório superior é responsável pela condução do ar até aos pulmões e é formado pela cavidade oral, fossas nasais, faringe, laringe e parte superior da traqueia. O trato respiratório inferior é onde ocorre as trocas gasosas e é constituído pelos órgãos localizados na cavidade torácica: parte inferior da traqueia, brônquios, bronquíolos, alvéolos e pulmões (8,9).

Este sistema resulta de uma diferenciação orgânica complexa, com a finalidade essencial de se assegurarem as trocas gasosas entre o ar atmosférico e o organismo, pela captação do oxigénio, necessário para as atividades vitais do Homem. Em contrapartida, serve como via de eliminação do dióxido de carbono produzido pelo metabolismo celular (10). A transferência gasosa ocorre nos alvéolos pulmonares, que são estruturas de pequenas dimensões, localizados na zona terminal dos bronquíolos respiratórios e canais alveolares (11). O alvéolo é revestido por dois tipos de células epiteliais, os pneumócitos tipo I, que permitem uma fácil difusão do oxigénio e dióxido de carbono entre o alvéolo e os capilares e os pneumócitos tipo II, que são responsáveis pela secreção de um surfactante, um complexo constituído por fosfolípidos e algumas proteínas que tem a função de renovar o revestimento alveolar e reduzir a tensão superficial dos alvéolos, impedindo o seu colapso (12). A membrana alveolar apoia-se numa membrana basal, que em conjunto com os capilares adjacentes formam uma membrana alvéolo-capilar. Esta interligação de membranas protege o alvéolo de substâncias e partículas estranhas e permite a ocorrência da difusão do dióxido de carbono e do oxigénio (11,12).

O sistema respiratório é ainda responsável por metabolizar algumas substâncias bioativas, ajuda a manter o equilíbrio ácido-base e protege as vias aéreas através da filtração, aquecimento e humidificação do ar (9). A cada respiração, ocorre a entrada de uma pequena quantidade de ar atmosférico que pode conter microrganismos, poeiras e outras matérias estranhas, que tem de ser removidas de modo a preservar a esterilidade dos alvéolos (11). As células caliciformes da camada epitelial revestem as vias respiratórias e produzem uma substância mucopolisacarídea espessa, o muco, que fixa e

agrega partículas estranhas, que posteriormente por ação do movimento dos cílios são eliminadas através da expetoração, espirro ou deglutição (13).

A estrutura das vias aéreas, a filtração aerodinâmica e o transporte mucociliar são os principais mecanismos de defesa mecânicos do sistema respiratório, que em conjunto com o sistema imunológico atuam para proteger os pulmões contra as infeções (14).

A defesa imunológica do trato respiratório é composta por um sistema de imunidade inata (ou natural) e um sistema de imunidade adquirida (ou adaptativa) (15). O sistema imunológico natural está presente desde o nascimento do indivíduo, é a primeira linha de defesa contra organismos desconhecidos, não sendo específico para um determinado antigénio. É mediado pelas células fagocitárias (neutrófilos e macrófagos), as células natural killer (NK) e as células dendríticas. Caso os microrganismos ultrapassem as barreiras naturais (pele ou mucosas) e os mecanismos de imunidade inata, ocorre uma resposta de imunidade adquirida, em que o sistema de defesa identifica o agente patogénico e desencadeia uma reação para o destruir ou, pelo menos, o desativar. É a segunda linha de defesa, sendo esta altamente específica para um determinado antigénio. Contrariamente ao sistema de imunidade inata, este apresenta memória imunológica. A resposta adaptativa é mediada por linfócitos T, que reagem diretamente contra os antigénios estranhos e linfócitos B que são estimulados a secretar anticorpos, proteínas denominadas de imunoglobulinas que reconhecem e fazem a ligação aos antigénios, para posteriormente serem destruídos (14,15).

A função pulmonar declina lentamente ao longo de toda a vida adulta, mesmo em indivíduos saudáveis (16). Vários são os fatores externos ou internos, que levam a alterações dos mecanismos de defesa do Homem e aumentam o risco de desenvolver uma infeção no sistema respiratório, dentre eles são de destacar as seguintes comorbilidades: doença neoplásica (ativa), doença hepática crónica, insuficiência cardíaca congestiva, doença cerebrovascular, doença renal crónica, doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC), alcoolismo e tabagismo. A deficiência nutricional, fatores ambientais, doentes hospitalizados com uso de dispositivos e doentes com antibioterapia e internamento recente também comprometem o sistema imunitário do paciente (16,17).

O envelhecimento é o fator mais importante que põe em causa as funcionalidades do sistema respiratório, com o passar dos anos surgem desregulações defensivas quer inespecíficas quer imunológicas que proporcionam o aparecimento de diversas infeções (18). As modificações que comprometem as funções pulmonares, surgem principalmente a partir dos 65 anos, nas quais se destacam a diminuição do volume pulmonar, a diminuição da pressão do oxigénio no sangue arterial, o aumento do volume residual ou seja quando existe uma expiração a quantidade de ar que fica retido nos pulmões, os bronquíolos tornam-se menos resistentes, facilitando o colapso expiratório e surge uma diminuição do número de alvéolos, devido a rutura dos septos interalveolares e consequente fusão alveolar (8,11). As alterações corporais com o passar dos anos também comprometem a função pulmonar, como a altura, o peso, o tamanho da cintura e a substituição do músculo por tecido adiposo. Idosos que realizam exercício físico apresentam melhor capacidade funcional do que idosos sedentários (17,18).

O género também influencia o envelhecimento pulmonar, os homens idosos saudáveis tendem a perder as funções pulmonares a uma taxa superior quando comparados com as mulheres idosas saudáveis (17).

1.2. Pneumonia

A pneumonia é definida como um processo inflamatório agudo ou crónico do parênquima pulmonar causada por um microrganismo patogénico e caracterizada pela consolidação das zonas afetadas na qual os alvéolos são ocupados por exsudato, células inflamatórias e/ou glóbulos brancos (19,20). A membrana alveolar torna-se edematosa e purulenta permitindo que os eritrócitos e os leucócitos passem do sangue para o alvéolo (20). À medida que as bactérias invadem outros alvéolos a infeção aumenta, a oxigenação do sangue diminui e o dióxido de carbono continua a ser eliminado adequadamente (8, 19).

É uma patologia que se expressa clinicamente de diversas formas, podendo inicialmente ser confundida com outras doenças. A evolução poderá ser favorável e ser uma patologia pouco grave ou pode evoluir para situações graves que levam à morte (6). Alguns dos sintomas que o paciente pode apresentar são: febre ou hipotermia, calafrios,

sudorese, dispneia e tosse, acompanhada ou não de expectoração, ou alterações da coloração das secreções respiratórias. Em idosos a fadiga ou a confusão mental podem constituir o único sintoma ou o sintoma mais proeminente (19, 21).

Apesar de as pneumonias poderem ser causadas por fungos, vírus e parasitas, as bactérias surgem como o agente etiológico mais frequente neste tipo de patologia em adultos. Em crianças estima-se que sejam os vírus os principais responsáveis (8).

Segundo o último relatório do Observatório Nacional de Doenças Respiratórias (ONDR), nos últimos 5 anos, o número de internamentos por pneumonia aumentou cerca de 14,1%. Em 2012 houve um aumento de 6,8% de internamentos face ao ano de 2011. Quanto à mortalidade verificou-se um aumento de 32,1% em cinco anos. Em 2012 faleceram 6.795 doentes por pneumonia, o que representa uma subida abrupta de 25,2% em relação ao ano anterior (22).

As pneumonias afetam indivíduos de todas as idades, porém existem dois grupos de risco vulneráveis ao aparecimento da patologia, que são os idosos (a Organização Mundial da Saúde (OMS) classifica cronologicamente como idosos as pessoas com mais de 65 anos de idade) e as crianças, principalmente com idade inferior aos 5 anos (22). Os idosos tornam-se indivíduos frágeis com habilidades regenerativas limitadas, onde o fator envelhecimento diminui as capacidades físicas, emocionais, motoras e imunológicas (18). A perda das funcionalidades pulmonares e de outros órgãos são a principal causa para o aparecimento de várias doenças graves e por vezes crónicas (16). As crianças segundo OMS são mais afetadas em países em desenvolvimento onde as condições básicas são precárias, devido a uma elevada carência nutricional e a uma falta de assistência médica. As crianças quanto mais novas forem, mais imaturos são os seus mecanismos de defesa imunológicos, o que dificulta uma resposta rápida no combate contra antigénio (23).

1.2.1. Definição e classificação dos diferentes tipos de pneumonia

A pneumonia pode ser classificada em dois principais grupos: Pneumonia Adquirida na Comunidade (PAC) e Pneumonia Nosocomial (PN), a delimitação entre estes conceitos é artificial e tem como objetivo a definição de grupos de risco para infeção por MMR (2,24).

A PAC é definida como a pneumonia que apresenta sinais, sintomas e alterações radiológicas compatíveis num doente que vem da comunidade, sendo uma das principais patologias a requerer assistência médica e com um uso excessivo de recursos de saúde (25). Num doente com PAC, é feita uma abordagem inicial na qual se impõem quatro procedimentos: a confirmação do diagnóstico, avaliação da gravidade, que condicionará o local onde o doente irá ser tratado (ambulatório, enfermaria ou Unidade de Cuidados Intensivos (UCI)), determinação do agente etiológico e delineação da estratégia terapêutica adequada, que inicialmente é empírica (25,26). A decisão de internamento, ou não, de um doente com PAC, por parte da entidade clínica, deverá ter em conta a sobrevivência do paciente, conhecer os diversos fatores de co-morbilidade, bem como a realidade social e psíquica do doente (26).

Estima-se que a incidência de PAC possa atingir 44/1000 indivíduos por ano e com uma percentagem de mortalidade de 1 a 3% (22). Os agentes etiológicos frequentemente responsáveis por esta patologia são: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* metilicina-sensível (MSSA), *Legionella pneumophila*, *Moraxella catarrhalis* e alguns bacilos Gram-negativos que afetam principalmente populações em situação de risco. *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Chlamydia psittaci* e *Coxiella burnetti*, são microrganismos atípicos responsáveis por uma pequena percentagem de pneumonias (25,27).

A PN é adquirida em meio hospitalar, 48h após o internamento e que não estava em incubação na altura da admissão (28). A PN inclui a Pneumonia associada a Cuidados de Saúde (PACS) e a Pneumonia associada a Ventilador (PAV). A PACS ocorre quando se verifica um dos seguintes casos: pneumonia que ocorre em doente com internamento superior ou igual a 2 dias em hospital de agudos nos 90 dias precedentes; residente em instituição de cuidados prolongados, incluindo lares; pessoas submetidas a quimioterapia, antibioterapia endovenosa, tratamento de feridas ou hemodiálise nos 30 dias precedentes e/ou conviventes com doentes infetados com MMR. Relativamente a este conceito, atualmente ainda não há um consenso entre diversas entidades, devido ao facto de não existir uma etiologia microbiana característica, uma vez que os agentes

patológicos são semelhantes aos que caracterizam a PN (28, 29). A PAV define-se como aquela que surge mais de 48-72h após entubação endotraqueal (28).

A PN ocorre entre 5 e 15 casos por 1000 admissões hospitalares, com uma taxa de mortalidade que varia entre os 33% e os 50% (22,28). Esta patologia tem um profundo impacto na prescrição de fármacos antibacterianos, sendo responsável por mais de 50% dos antibacterianos administrados nos diversos serviços de uma unidade hospitalar (6). Existe um número elevado de pacientes internados num hospital por outra patologia que desenvolvem posteriormente uma pneumonia por diversos fatores de risco. Além disso, os microrganismos a que um paciente internado está exposto são na maioria das vezes diferentes daqueles que estão fora de um ambiente hospitalar, as bactérias apresentam índices de resistência aos antibacterianos muito superiores quando comparados com as bactérias que coabitam na comunidade (24, 28).

O tempo de aparecimento da PN é uma importante variável epidemiológica e um fator de risco a ter em conta para determinar os microrganismos patogénicos envolvidos. Como tal, a PN pode ser dividida em pneumonia de aparecimento precoce, quando surge até ao 4º dia de internamento e pneumonia de aparecimento tardio, após o 5º dia de internamento (28). No primeiro caso, o prognóstico é melhor e há maior probabilidade de infeção por microrganismos sensíveis, nomeadamente: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, MSSA e bacilos entéricos Gram-negativos. No segundo caso, verifica-se um maior risco de infeção por MMR, resultantes da mudança progressiva da microbiota colonizante inicial do doente para uma microbiota hospitalar. A taxa de mortalidade neste tipo de pneumonia é maior e pode ser causada principalmente por *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp*, *Acinetobacter spp* ou *Staphylococcus aureus* metilicina-resistente (MRSA) (30, 31).

1.3. Diagnóstico

O diagnóstico de uma pneumonia depende do historial clínico do paciente e do respetivo exame médico. Nem sempre é fácil de detetar, devido por vezes à sobreposição de outras doenças, mas é de extrema importância, para que haja o tratamento adequado e evitar a evolução da doença para situações mais graves (6).

A radiografia ao tórax é um método indispensável tanto para o diagnóstico como para avaliar a gravidade da doença e descartar outras que possam dar sintomas do mesmo tipo. Através deste é possível verificar a presença de infiltrados característicos da pneumonia, através da opacidade, existência de derrame pleural, cavitações e obstruções brônquicas (32).

Outro método utilizado que ajuda no diagnóstico de pneumonia é através de exames bacteriológicos, obtidos através de hemoculturas, exames culturais e exames diretos (Gram) das secreções respiratórias, com o fim de identificar com maior precisão o(s) microrganismo(s) patogénico(s) e saber qual o antibacteriano adequado (6). A colheita da expectoração deverá ser efetuada de forma correta para evitar contaminações por parte da microbiota comensal das vias aéreas superiores e em quantidades suficientes. Caso não se consiga obter uma boa amostra de expectoração, recorre-se à broncoscopia, na qual se colhe o lavado broncoalveolar (LBA) e o aspirado broncoalveolar (ASP). Apesar de ser um método invasivo, é o método mais eficaz devido a escassa probabilidade de contaminação pela microbiota da orofaringe. A colheita destes produtos biológicos deverá ser efetuada antes do início da antibioterapia (6, 28).

Para o diagnóstico correto de pneumonia, deverá ter-se em conta para além da radiografia ao tórax e exames bacteriológicos os seguintes parâmetros clínicos: temperatura superior a 38°C ou inferior a 36°C, leucocitose superior a 10 000/mm³ ou leucopenia inferior a 4000/mm³ (6).

1.4. Antibacterianos

Os antibacterianos são substâncias químicas, naturais ou sintéticas, que têm a capacidade de inibir o crescimento de bactérias ou de as destruir, tendo como objetivo o menor número de efeitos secundários para o Homem (33).

Antes da descoberta dos antibacterianos, os microrganismos, principalmente Gram-positivos, estiveram associados a nível hospitalar a um número elevado de doenças infecciosas. Com a descoberta dos primeiros antibacterianos, penicilina e sulfamidas, em 1928 e 1932, respetivamente, o problema com as infeções começou a diminuir e começaram a surgir, as bactérias Gram-negativas como predominantes entre os agentes

infeciosos. O desenvolvimento de novas moléculas eram desafios conseguidos para a indústria farmacêutica, que revolucionou a eficácia dos tratamentos contra as infeções e proporcionou uma redução drástica nas taxas de mortalidade (33,34).

Porem, o uso excessivo e descontrolado de antibacterianos, tanto a nível hospitalar como em outras áreas, agropecuária, alimentar e industrial, levou à ineficácia de muitos antibacterianos pela notável capacidade das bactérias se tornarem resistentes através de mutações ou de aquisição de genes de resistência a partir de outros organismos. Atualmente os esquemas terapêuticos acabam por ter insucesso, e por vezes as infeções em vez de regredirem, evoluem para situações mais graves, debilitando o sistema imunitário do paciente (3,4,35). Outro fator que pode levar ao fracasso terapêutico é que apesar dos antibacterianos serem úteis para uma grande variedade de infeções, é importante ter a perceção de que os antibacterianos apenas atuam contra as bactérias, todas as infeções causadas por fungos, vírus ou parasitas não são tratadas com estas substâncias (36).

Um antibacteriano deverá ter diversas características, que nem sempre são conseguidas, para que seja o ideal no tratamento das infeções bacterianas, tais como, alcançar rapidamente os alvos moleculares, ter um espectro estreito de ação para não afetar a microbiota comensal, ter boa distribuição no local de infeção, evitar a ação das bombas de efluxo, evitar a inativação por enzimas capazes de modificar o antibacteriano, ter uma relação de custo/eficácia acessível e poder ser administrado por diversas vias, tais como a via oral, a intravenosa e a intramuscular (33).

Os antibacterianos utilizados no combate das infeções bacterianas, podem ser classificados em bactericidas, quando levam à morte das bactérias ou bacteriostáticos, quando inibem o crescimento bacteriano ficando em fase estacionária. Em algumas circunstâncias determinados antibacterianos, podem apresentar atividade bacteriostática enquanto noutras situações têm atividade bactericida (37).

1.4.1. Mecanismos de ação dos antibacterianos

Os antibacterianos diferem nas suas propriedades físicas, químicas e farmacológicas, no espectro de ação e nos mecanismos de ação. O conhecimento dos

mecanismos de ação dos antibacterianos permite entender a sua natureza, o grau de toxicidade seletiva de cada antibacteriano e compreender como é que cada composto interfere nos ciclos vitais das bactérias de forma a neutralizá-las ou provocar a sua morte. Os principais mecanismos de ação dos antibacterianos são: a inibição da síntese da parede celular, inibição da síntese proteica, inibição da síntese dos ácidos nucleicos, inibição da síntese do ácido fólico e alteração da membrana celular (Figura1) (33).

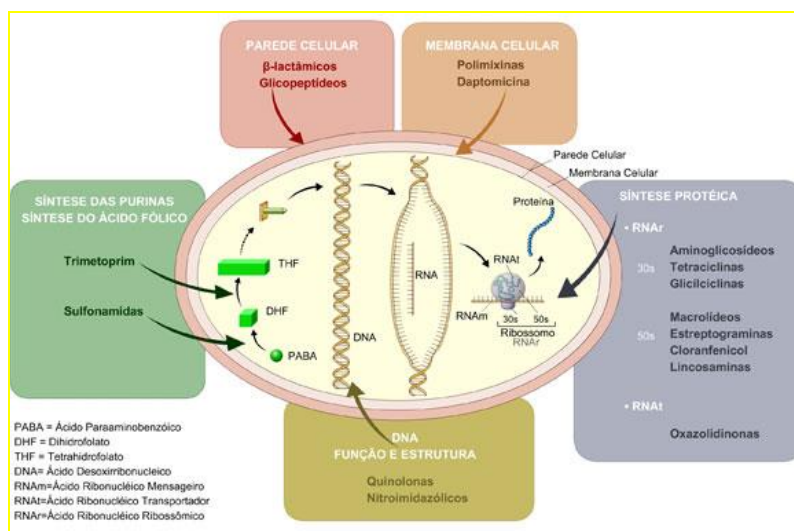


Figura 1 - Representação esquemática dos mecanismos de ação dos diferentes grupos de antibacterianos. Adaptado de (38).

1.4.1.1. Inibição da síntese da parede celular

Os principais antibacterianos que interferem na síntese da parede celular das bactérias são classificados como o grupo dos β-lactâmicos (as penicilinas, cefalosporinas, carbapenemos, monobactâmicos e inibidores de β-lactamases), por compartilharem uma estrutura de um anel β-lactâmico. Outros antibacterianos que podem inibir a síntese da parede celular bacteriana são os glicopeptídicos (vancomicina e teicoplanina) (33).

O principal constituinte da parede celular das bactérias é o polímero peptidoglicano, responsável por dar forma e rigidez à célula bacteriana de modo a evitar a sua rutura. Existe em maior quantidade nas bactérias Gram positivas face às bactérias Gram negativas. A estrutura básica deste constituinte é uma cadeia de 10 a 65 resíduos de dissacarídeos formados por moléculas de N-acetilglicosamina intercaladas com moléculas de ácido N-acetilmurâmico (NAM) e ligadas entre si por pontes de péptidos. A construção das cadeias e as ligações cruzadas são catalisadas por enzimas específicas que

são membros de uma grande família das proteases serínicas. Estas enzimas regulatórias são também chamadas de proteínas ligadoras de penicilina (PBPs - *Penicilin Binding Protein*), porque são os alvos de antibacterianos β -lactâmicos. Quando as bactérias em crescimento são expostas a estes antibacterianos, o antibacteriano liga-se às PBPs específicas da parede celular bacteriana, inibindo a síntese de peptidoglicano e por sua vez ativam as autolisinases que provocam a lise celular e posteriormente a morte das células bacterianas (39,40).

Os glicopeptídeos são inibidores da biossíntese do peptidoglicano na fase membranar. Fazem parte deste grupo a vancomicina e teicoplanina. Estes antibacterianos ligam-se especificamente ao dipeptídeo D-alanil-D-alanina da cadeia peptídica dos precursores do peptidoglicano, impedindo a transferência das unidades recém sintetizadas para a matriz parietal em crescimento. Este acontecimento provoca a lise celular bacteriana (33).

1.4.1.2. Inibição da síntese proteica

A seletividade dos antibacterianos com ação sobre a síntese proteica é devido às diferenças no ribossoma 70S procariótico e o 80S eucariótico. O complexo ribossomal 70S é formado pela associação das subunidades 30S e 50S em ambas ocorre a ligação dos fármacos de forma a inibir/modificar a síntese proteica (Tabela 1). Contudo os ribossomas mitocondriais da célula eucariota também possuem uma subunidade 70S, podendo ser alvo para alguns dos antibacterianos e por consequência, provocar toxicidade para o homem (33,40).

Tabela 1 - Local de ação dos diferentes antibacterianos

Antibacterianos	Local de ação
Macrólidos	50S
Clindamicina	
Cloranfenicol	
Oxazolidinonas	
Streptograminas	
Aminoglicosídeos	30S
Tetraciclina	
Espectinomicina	

Os macrólidos, o cloranfenicol, a clindamicina e a estreptogramina atuam pela ligação que fazem ao componente peptidil transferase da subunidade 50S do ribossoma, impedindo as reações de transpeptidação e translocação que por sua vez bloqueia a síntese proteica, enquanto a oxazolidinona liga-se à subunidade 50S do ribossoma, que distorce o sítio de ligação do RNA de transferência (RNAt), inibindo desta forma a formação do complexo de iniciação 70S (40,41).

Os aminoglicosídeos ligam-se irreversivelmente ao ribossoma 30S. Esta ligação vai causar leituras erradas do RNA mensageiro (RNAm) produzindo proteínas anómalas. As tetraciclinas atuam pela ligação reversível à porção 30S do ribossoma bloqueando a ligação do aminoacil-RNAt, necessária para a continuação da fase de elongação da síntese proteica, inibindo assim a síntese de novas proteínas. A espectinomicina inibe o alongamento da cadeia peptídica pela interferência que faz na ligação da peptidil-RNAt (33,41).

1.4.1.3. Inibição da síntese dos ácidos nucleicos

Os antibacterianos com este mecanismo de ação atuam inibindo, direta ou indiretamente, as enzimas que atuam na síntese dos ácidos nucleicos, os grupos de antibacterianos com estes mecanismos são, as quinolonas, a rifampicina e o metronidazol (40).

As quinolonas exercem os seus efeitos antibacterianos inibindo as duas enzimas que são necessárias para a replicação do DNA (ácido desoxirribonucleico) das bactérias, a DNA topoisomerase tipo II (girase), ou topoisomerase tipo IV. Nas bactérias Gram negativas, as quinolonas atuam sobre a DNA girase, enquanto nas bactérias Gram positivas atuam sobre a topoisomerase tipo IV. A ligação à enzima girase do DNA leva à inibição do processo de enrolamento do DNA bacteriano mediado por esta enzima, o qual é essencial para a replicação do DNA e transcrição. A ligação à enzima topoisomerase IV inibe a separação das moléculas de DNA durante a replicação do DNA mediada por esta enzima, inibindo assim a replicação do DNA (41).

A rifampicina atua ligando-se à sub-unidade β da RNA (ácido ribonucleico) polimerase, inibindo a iniciação da síntese de RNA. O metronidazol, atua pela redução do

seu grupo nitro em nitrorredutases bacterianas, produzindo compostos tóxicos que rompem o DNA do hospedeiro (33).

1.4.1.4. Inibição da síntese do ácido fólico

A seletividade dos antibacterianos, sulfametoxazol e o trimetoprim, é uma consequência das bactérias por não terem a capacidade de utilizar ácido fólico pré-formado e precisam sintetizar o seu próprio ácido fólico. Contrariamente às células de mamíferos que usam ácido fólico obtido a partir do alimento. O sulfametoxazol é um análogo do ácido para-aminobenzóico (PABA) responsável por inibir a síntese do ácido dihidropteróico. O trimetoprim é uma molécula análoga da porção pteridina do ácido dihidropteróico e funciona como um inibidor competitivo de dihidrofolato redutase (DHFR), enzima que catalisa a redução de ácido dihidrofólico a ácido tetrahidrofólico, portanto a formação de ácido fólico é comprometida (42).

Quando ambos os antibacterianos são utilizados em associação, uma combinação entre uma sulfonamida, a sulfametoxazol, com o trimetoprim, denominado de cotrimoxazol, ocorre o bloqueio de duas enzimas cruciais para a sobrevivência da bactéria (33,42).

1.4.1.5. Alteração da membrana celular

Os antibióticos que provocam alterações na permeabilidade da membrana citoplasmática por interação com os fosfolípidos, são denominados antibióticos antimembranares.

A alteração da permeabilidade da membrana citoplasmática por agentes químicos ou físicos, permite um efluxo de K^+ , de nucleótidos e aminoácidos, provocando morte celular, as polimixinas e as gramicidinas são exemplos de antibacterianos que alteram a membrana celular. As polimixinas interagem com os lipopolissacarídeos e fosfolípidos na membrana externa, produzindo um aumento de permeabilidade celular e eventual morte celular. As gramicidinas atuam como antibacterianos ionofóricos alterando a permeabilidade catiónica da membrana celular, permitindo o efluxo de K^+ intracelular provocando a morte bacteriana (33,40).

1.5. Resistência bacteriana

A resistência aos antibacterianos é um fenómeno genético que evoluiu como uma resposta natural das bactérias à exposição a estes fármacos e pode ser definida pela capacidade de resistir às concentrações clínicas do antibacteriano administrado (43). Este fenómeno tem vindo a aumentar claramente devido à utilização inadequada de antibacterianos, pelo que é necessário intervir de forma coordenada para evitar chegar a um patamar irreversível onde deixa de haver um antibacteriano capaz de combater uma determinada infeção (4,5).

A resistência de uma bactéria a um antibacteriano pode resultar de mecanismos intrínsecos ou adquiridos (44). Os mecanismos intrínsecos ocorrem de forma natural em genes presentes no cromossoma bacteriano de uma determinada espécie. A resistência pode ser adquirida, quando surge uma resistência numa bactéria anteriormente sensível a um determinado fármaco (44,45). Ocorre através de mutações espontâneas, que surgem naturalmente durante o crescimento bacteriano e/ou aquisição de DNA exógeno, por transferência de genes de organismos resistentes para os sensíveis, através de elementos genéticos móveis (plasmídeos, transposões ou integrões) sendo por isso a mais preocupante devido à possibilidade de disseminação dos genes de resistência a uma população bacteriana. Existem bactérias que apresentam mais do que um destes mecanismos, tornando-se ainda mais resistentes (46).

Dentre os principais mecanismos de resistência é de citar (Figura 2):

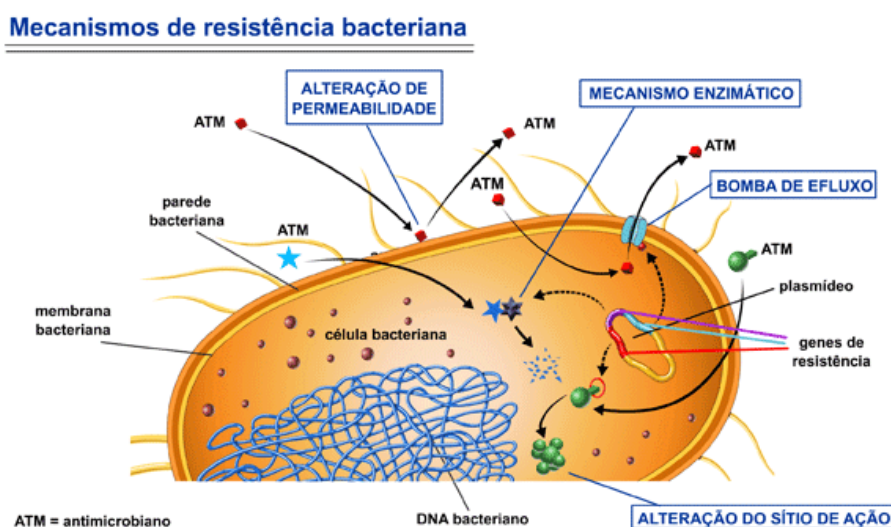


Figura 2 - Principais mecanismos de resistência aos antibacterianos. Adaptado de (38).

1.5.1. Alteração da permeabilidade

As bactérias Gram negativas, devido às propriedades da membrana externa de lipopolissacarídeo têm uma capacidade intrínseca de limitar a entrada de moléculas. A permeabilidade dessa membrana reside na presença de proteínas transmembranares, as porinas, que estabelecem canais específicos hidrofílicos pelos quais as substâncias podem passar para o espaço periplasmático e, em seguida, para o interior da célula. Neste tipo de resistência, a modificação da permeabilidade do antibacteriano pode dever-se às alterações estruturais, do número, da seletividade ou do tamanho das porinas. É um mecanismo de resistência que afeta principalmente a fosfomicina, as tetraciclinas, aos aminoglicosídeos e as quinolonas (40,46).

1.5.2. Alteração do local de ação

A alteração do local-alvo onde atua um determinado antibacteriano, de modo a impedir a ocorrência de qualquer efeito inibitório ou bactericida, constitui um dos mais importantes mecanismos de resistência. Este tipo de resistência é caracterizado pela diminuição ou mesmo ausência de afinidade do antibacteriano ao local de ligação. Esta alteração estrutural do local de ação pode ser derivada de uma mutação que vai impedir a ação de um determinado antibacteriano. Este mecanismo de ação pode ocorrer em todas as classes de antibacterianos (46).

1.5.3. Bomba de efluxo

As bombas de efluxo estão presentes na membrana das bactérias e tem como função impedir a acumulação no seu interior de concentrações elevadas de substâncias tóxicas. Neste tipo de resistência ocorre o bombeamento ativo de antibacterianos do meio intracelular para o extracelular. É um mecanismo extremamente eficaz e afeta a maioria dos antibacterianos, nomeadamente as tetraciclinas, os macrólidos, a clindamicina, os aminoglicosídeos, os β -lactâmicos, as quinolonas e os glicopeptídeos (39,40).

1.5.4. Mecanismo enzimático

Algumas bactérias possuem enzimas no interior da membrana externa que tem a capacidade de degradar ou inativar o antibacteriano. A inativação enzimática dos antibacterianos está associada a elementos genéticos móveis. As bactérias produtoras de enzimas β -lactamases, têm a capacidade de hidrolisar a ligação amida do anel β -lactâmico, destruindo o local onde os antibacterianos β -lactâmicos se ligam às PBPs bacterianas e através do qual exercem o seu efeito antibacteriano (p.ex. penicilinas e cefalosporinas) (46). O grupo composto pelas enzimas N-acetiltransferases, O-nucleotidil-transferases e O-fosfotransferases, são responsáveis pela inativação dos aminoglicosídeos (40,46).

1.6. Tratamento

1.6.1. Tratamento para Pneumonia Adquirida na Comunidade

Nos doentes com diagnóstico de PAC, primeiramente é necessário fazer uma avaliação para determinar o local de tratamento, como auxilio na decisão é recomendado a utilização dos instrumentos CRB-65 e CURB-65 (Anexo I) (47).

Nos doentes que podem ser tratados em ambulatório a escolha do antibacteriano deve obedecer aos seguintes critérios: se são indivíduos previamente saudáveis e sem antibioterapia nos três meses anteriores deverá ser escolhido como primeira linha de tratamento a amoxicilina. Caso haja intolerância à amoxicilina em alternativa será prescrito a azitromicina, claritromicina ou doxiciclina. O doente que apresente comorbilidades ou antibioterapia nos três meses anteriores será administrado como primeira linha a amoxicilina associada a um dos três seguintes antibacterianos: azitromicina, claritromicina ou doxiciclina. Se existir intolerância ao tratamento de primeira linha a alternativa será a levofloxacina ou moxifloxacina. Caso seja necessário poderá ser administrado cefuroxima em vez de amoxicilina (Anexo II) (25, 47). A duração do tratamento deve ser de sete dias, exceto quando se utiliza azitromicina em que o tratamento deverá ser de apenas três dias. Se for administrado claritromicina ou

fluoroquinolona o tratamento é apenas de cinco ou seis dias. Após o tratamento deverá ocorrer uma reavaliação do doente (47).

1.6.2. Tratamento para Pneumonia Nosocomial

Para que o tratamento de PN seja o adequado é importante ter em conta a presença ou ausência de fatores de risco do doente e para a presença de MMR, tais como: pneumonia tardia, em que apenas é detetada em 5 ou mais dias de hospitalização, hospitalização prévia nos 3 meses anteriores, antibioterapia prévia recente e existência de co-morbilidades. Caso o doente não esteja associado a nenhum fator de risco, o tratamento de primeira linha deverá ser amoxicilina com ácido clavulânico, ceftriaxona, cefotaxima ou levofloxacina (6,28).

Um doente com apenas um fator de risco, deverá ser submetido a antibioterapia com cobertura para *Pseudomonas aeruginosa*, através da associação de um β -lactâmico com atividade antipseudomonas com um aminoglicosídeo ou uma fluoroquinolona. Num doente com 2 ou mais fatores de risco, além da cobertura para *Pseudomonas aeruginosa*, deverá ser igualmente alargado o espectro de ação da terapêutica antibacteriana para MRSA, com vancomicina ou linezolida (Anexo III) (6,28).

É recomendada a duração do tratamento de 10 a 15 dias para as PN causadas por bacilos Gram negativos e 7 a 8 dias para as restantes bactérias. Na terapêutica combinada com aminoglicosídeos o tratamento não deve ir além de 5 dias (6).

1.7. Medidas de prevenção de pneumonias

A prevenção da doença poderá ser feita de diversas formas, não só pela vacinação como também pela implementação de medidas ambientais e comportamentais básicas que por vezes são suficientes para evitar o contacto com os agentes patogénicos responsáveis por provocar uma pneumonia (48). Deve-se lavar as mãos com frequência, evitar estar em lugares poluídos, fechados ou sem ventilação. Não fumar, o fumo provoca lesões irreversíveis nos pulmões e deve-se ainda evitar o contacto com doentes que contraiam ou contraíram a doença.

As vacinas são das opções mais eficazes e seguras de proteção contra determinadas doenças. Mesmo quando a imunidade não é total, quem está vacinado tem maior capacidade de resistência na eventualidade da doença surgir. Atualmente, existem vacinas disponíveis para a pneumonia pneumocócica que, mesmo não sendo capazes de prevenir todos os casos de pneumonia, podem evitar as formas mais graves. Os dois principais grupos de risco, as crianças e os idosos, devem ser vacinados. Existe uma vacina contra a bactéria *Haemophilus influenzae* e outra para *Streptococcus pneumoniae*, duas bactérias de prevalência importante na pneumonia. Para as formas virais também existem vacinas que devem ser administradas aos indivíduos que pertencem ao grupo de risco (48,49).

As estratégias de prevenção das pneumonias estão mais direcionadas para o meio hospitalar, uma vez que é nestas instituições que ocorre o maior número de casos. Nos hospitais é necessário educar e envolver os profissionais de saúde na implementação das regras de prevenção, na vigilância epidemiológica da infeção, na execução de medidas que modificam os fatores de risco do doente e a interrupção da transmissão de microrganismos pelos dispositivos médicos. Na tabela seguinte, estão descritas as principais medidas que modificam os fatores de risco do hospedeiro (6).

Tabela 2 - Prevenção de Pneumonias Nosocomiais. Adaptado de (6).

Área de intervenção	Medidas recomendadas
Programa de controlo de infeção hospitalar	<ul style="list-style-type: none"> – Educação e formação dos profissionais; – Lavagem das mãos; – Identificação e isolamento, sempre que possível, dos doentes com microrganismos multirresistentes; – Vigilância epidemiológica e microbiológica periódica; – Política de prescrição de antibacterianos.
Entubação e ventilação mecânica	<ul style="list-style-type: none"> – Evitar a entubação e a reentubação, se possível optar por ventilação não invasiva; – Preferir a entubação orotraqueal e orogástrica; – Evitar sedação profunda prolongada e agentes paralisantes; – Períodos de suspensão diária da sedação; – Avaliação diária da possibilidade de extubação.
Posicionamento e alimentação	<ul style="list-style-type: none"> – Manutenção da cabeceira entre 30-45°; – Alimentação entérica preferível em relação à alimentação parentérica

Para evitar a transmissão de microrganismos entre doentes, os profissionais de saúde têm de ter um comportamento rigoroso e obedecer ao cumprimento de determinadas regras, como: deverá ser efetuada uma correta descontaminação das mãos, utilizando antissépticos com solução alcoólica; lavar e esterilizar os dispositivos médicos e interpessoais e em caso de se realizar processos invasivos no doente, deve-se fazê-lo em condições de assepsia (6).

É necessário formar e sensibilizar todos os profissionais de saúde, os doentes, os acompanhantes e o corpo de voluntários, no sentido de ajudarem a prevenir qualquer infeção que pode colocar a vida do doente em risco.

2. Objetivo

A escolha deste tema de trabalho deveu-se ao facto de cada vez mais ser necessário conhecer o agente etiológico responsável por uma pneumonia bacteriana e o seu perfil de suscetibilidade aos antibacterianos a fim de administrar o melhor antibacteriano e deste modo tentar diminuir e/ou controlar as resistências. Para isso é necessário obter um diagnóstico eficaz e em tempo útil, o que nem sempre é fácil devido aos métodos laboratoriais utilizados. No entanto, os métodos de cultura convencionais ainda são muito úteis e importantes para o auxílio no diagnóstico de uma pneumonia. Como tal, foi realizado este trabalho que tem como principal objetivo a caracterização da microbiota de amostras biológicas e avaliação dos seus perfis de resistência aos antibacterianos, num período de 5 anos, no CHL.

Para alcançar o objetivo principal realizou-se:

- Caracterização da população em estudo, por sexo e idade;
- Estudo da distribuição mensal dos doentes com pneumonias;
- Caracterização dos diversos serviços do CHL, onde foram detetados doentes com pneumonia;
- Avaliação e caracterização, através de amostras biológicas, dos principais agentes etiológicos identificados;
- Caracterização dos principais isolados bacterianos tendo em conta a idade dos doentes;
- Avaliação do padrão de resistência dos principais isolados bacterianos aos antibacterianos testados e comparação da sua evolução ao longo dos cinco anos de estudo.

3. Material e Métodos

3.1. Caracterização do laboratório e período de estudo

O CHL é composto por três unidades de saúde, o Hospital de Santo André em Leiria, o Hospital Distrital de Pombal, localizado em Pombal e agregado em 2012 e por fim o Hospital Bernardino Lopes de Oliveira, situado em Alcobaça e 2013 foi o ano em que se associou às restantes instituições.

O serviço de Patologia Clínica, do CHL, é responsável pela resposta de todos os pedidos de análises provenientes da urgência, internamento, hospital de dia e ambulatório. É composto por uma secretaria, sala de espera, gabinetes de colheitas e áreas laboratoriais, de onde se destacam os laboratórios de bioquímica, de hematologia, de imunologia e de microbiologia. É constituído por um médico, cinco técnicos superiores de saúde, dezasseis técnicos de análises clínicas e de saúde pública, três assistentes operacionais e dois assistentes técnicos, equipa multidisciplinar de profissionais que asseguram todo o funcionamento do serviço e equipamentos.

O estudo desenvolvido decorreu no laboratório de microbiologia e foi baseado nos dados obtidos durante um período compreendido entre janeiro de 2009 e dezembro de 2013, através da utilização da base de dados implementada no local, Modulab Laboratório. Nesta base está registada a informação pessoal de cada paciente, o serviço em que esteve presente, os exames efetuados e respetivos resultados. Assim sendo, foi possível detetar todos os doentes com o diagnóstico de pneumonia dos diversos serviços deste Centro Hospitalar.

3.2. Procedimentos laboratoriais

As variáveis consideradas para o estudo foram: idade, sexo, sazonalidade, tipo de amostras respiratórias, serviço hospitalar, espécie(s) bacteriana(s) isolada(s) e perfil de suscetibilidade aos antibacterianos.

O processamento laboratorial das amostras biológicas, passa por várias etapas: colheita, transporte, registo, processamento da amostra para exame direto e exame cultural, um período de incubação, interpretação dos resultados e por fim a identificação e o teste de sensibilidade a antibacterianos.

A colheita das amostras biológicas é feita de preferência pela manhã, em jejum e após higiene oral do paciente. Deverá ser efetuada de forma cautelosa, para minimizar as contaminações provenientes da microbiota normal do trato respiratório superior e colocada num recipiente estéril, seco, de boca larga e de tampa com rosca. Os produtos a considerar foram: expetoração, lavado brônquico e aspirado pulmonar. Quando chegadas ao serviço de Patologia Clínica é feito um registo no sistema informático, com os dados do paciente, o tipo de amostra, o tipo de exames pedidos pelo clínico e por fim é enviado para o laboratório de microbiologia.

No laboratório é feita a confirmação dos dados e de seguida o processamento para o exame bacteriológico que abrange o exame direto e o exame cultural. O exame direto, consiste num esfregaço do produto numa lâmina que depois de seca e fixada é corada pela técnica Gram (Anexo IV) através do PREVI™ Color Gram. A observação das lâminas é feita recorrendo ao microscópio ótico, utilizando a objetiva de 100x.

Para a realização do exame cultural é necessário semear, uma porção purulenta do produto biológico através de ansa estéril em meios específicos (Anexo V), de seguida incubar as placas na estufa a 37º C durante um período compreendido entre as 24h e 48h.

3.3. Identificação dos isolados bacterianos e teste de suscetibilidade aos antibacterianos

O exame direto tem como objetivo avaliar a qualidade da amostra tendo em conta a presença de leucócitos polimorfonucleares, células epiteliais, a morfologia e o predomínio de algumas bactérias classificando-as como cocos, bacilos ou cocobacilos, Gram-negativa ou Gram-positiva (5,6). Estes resultados da coloração de Gram são úteis pois permitem diferenciar de forma rápida qual o tipo de bactéria que está a provocar a infeção e assim o clínico consegue monitorizar a infeção até que os resultados do exame cultural estejam disponíveis.

Após o período de incubação é realizada a análise macroscópica dos exames culturais, onde se valorizam as bactérias patogénicas com significado etiológico. Para ajudar na identificação é possível recorrer para determinadas bactérias a provas bioquímicas específicas, nomeadamente a catálase, a oxidase e a coagulase. (Anexo VI).

Após a deteção da bactéria faz-se o isolamento dos microrganismos por repicagem para obtenção de culturas puras. Caso não haja crescimento de bactérias ou um crescimento insignificante com predomínio de microbiota oral, o exame cultural é considerado como negativo. Por fim, para a realização dos testes de suscetibilidade aos antibacterianos (TSA) e identificação dos microrganismos patogénicos, usa-se o equipamento, VITEK 2 Technology. Para estes testes apenas é necessário repicar 2 a 3 colónias puras das bactérias e colocar numa suspensão salina estéril, até atingir uma densidade entre 0,50-0,65 na escala de McFarland e colocar a carta correspondente à bactéria em questão (Anexo VII). Por fim esperar, no mínimo cerca de 12h e interpretar os resultados obtidos em sistema informático. Relativamente aos TSA o resultado é dado como S-Sensível, I-Intermédio e R-Resistente, com as respetivas concentrações mínimas inibitórias (CMI) de acordo com as normas Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) e European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST).

3.4. Tratamento de dados

Os dados foram retirados originalmente da base de dados, por cada ano de estudo e posteriormente foram selecionados de acordo com o tipo de amostra biológica, diagnóstico e microrganismo isolado. É de referir que os dados não foram classificados de acordo com a origem da pneumonia, se comunitária ou hospitalar devido à impossibilidade de aceder aos processos clínicos dos pacientes.

Posteriormente, através da utilização do programa Microsoft Office Excel 2013, foi feita uma nova pré-seleção de dados, a fim de excluir os isolados repetidos. Este procedimento revelou-se de extrema importância para a obtenção de resultados reais, pois caso os duplicados tivessem sido contabilizados o número de microrganismos isolados e as resistências aos antibacterianos seriam ainda mais elevados.

Desse modo, foram desenvolvidos critérios de exclusão de dados, tais como: foram excluídos todos os isolados da mesma bactéria provenientes do mesmo paciente durante um período de 30 dias após o primeiro isolamento da bactéria e caso fosse enviado mais do que uma amostra biológica do paciente no mesmo dia, apenas se considerava o primeiro envio.

Ao longo dos anos de estudo as cartas de antibiogramas para o VITEK 2 Technology, foram sofrendo algumas modificações com a introdução e exclusão de antibacterianos, como tal para este trabalho apenas se fez o estudo dos antibacterianos e respetiva evolução de resistência, dos que se mantiveram ao longo dos anos, para os quatro principais microrganismos patogénicos responsáveis pelas pneumonias.

Para *Staphylococcus aureus*, os antibacterianos testados foram: penicilina G, oxacilina, daptomicina, teicoplanina, vancomicina, gentamicina, tobramicina, tetraciclina, tigeciclina, eritromicina, clindamicina, linezolida, levofloxacina, moxifloxacina, fosfomicina, mupirocina e cotrimoxazol.

Os antibacterianos testados para *Pseudomonas aeruginosa* foram: minociclina, piperacilina, ticarcilina, piperacilina + tazobactam, ticarcilina + ácido clavulânico, ceftazidima, cefepima, imipenemo, meropenemo, aztreonamo, amicacina, gentamicina, tobramicina, ciprofloxacina, pefloxacina, colistina e cotrimoxazol.

Por fim, para *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* foram testados os seguintes antibacterianos: ampicilina, amoxicilina + ácido clavulânico, piperacilina + tazobactam, cefalotina, cefuroxima, cefotaxima, ceftazidima, ertapenemo, meropenemo, amicacina, gentamicina, tobramicina, ciprofloxacina, levofloxacina e cotrimoxazol.

4. Resultados

4.1. Caracterização clínica da população

Durante o período de cinco anos de estudo (2009 a 2013) e após avaliação do cumprimento dos critérios de exclusão neste trabalho, foram selecionados, 2945 doentes com o diagnóstico de pneumonia bacteriana, tendo por base as amostras biológicas que deram entrada no laboratório de microbiologia, provenientes dos diversos serviços do CHL. Desse total, ao longo dos anos de estudo verificou-se sempre um predomínio nos indivíduos do sexo masculino (65,5% dos casos – 1918 doentes) face ao sexo feminino (34,5% dos casos – 1027 doentes) (Tabela 3).

Tabela 3 - Distribuição ao longo dos anos de estudo dos doentes com pneumonia por sexo.

	Masculino (N)	Feminino (N)
2009	427	158
2010	326	163
2011	298	155
2012	411	254
2013	456	297
Total	1918	1027
%	65,5	34,5

A idade dos pacientes com pneumonia abrangeu todos os grupos etários, desde os 0 aos 103 anos, com uma média de idades de 73,1 anos. A incidência desta patologia foi superior a partir dos 60 anos, sendo a faixa etária dos 80-89 anos a mais afetada, para ambos os sexos (29,5% - sexo masculino; 18,4% - sexo feminino). Os indivíduos menos vulneráveis à doença foram os que apresentavam idades entre os 19 e os 29 anos (0,8 % - sexo masculino; 0,7% - sexo feminino). As crianças também foram afetadas com esta patologia, apesar de não ser em percentagens elevadas, mas uma vez consideradas como um grupo de risco, a sua avaliação tornou-se importante (2,7% - sexo masculino; 2,2% - sexo feminino). Verificou-se então que estes casos de pneumonia, à exceção do grupo das crianças, foram mais frequentes à medida que as idades dos pacientes aumentavam (Figura 3).

As características demográficas da população traduzem ainda a realidade do nosso país, em que as taxas de envelhecimento são altas e são os idosos um grupo de risco na aquisição de pneumonias e outras doenças infecciosas graves. Neste trabalho o idoso, com idade acima dos 65 anos foi responsável por 79,5% casos de pneumonia.

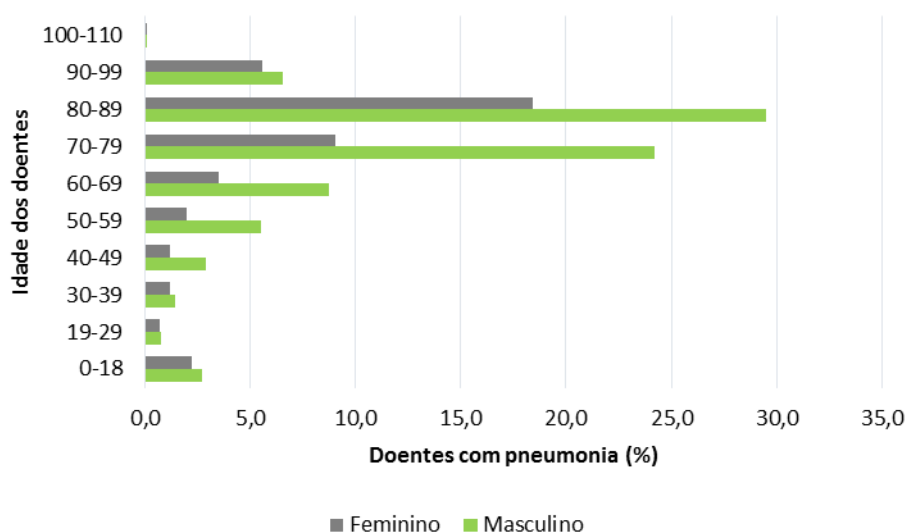


Figura 3 - Distribuição dos doentes selecionados por sexo e idade.

Em relação à evolução da doença, verificou-se que nos primeiros três anos de estudo subsistiu uma diminuição nos casos, contudo ao longo dos dois últimos anos o número de doentes com pneumonia aumentou consideravelmente. Entre o ano 2011 e o ano 2013 houve um aumento significativo de 10,2%, o que correspondeu a 300 novos casos de pneumonia que surgiram no CHL (Figura 4).

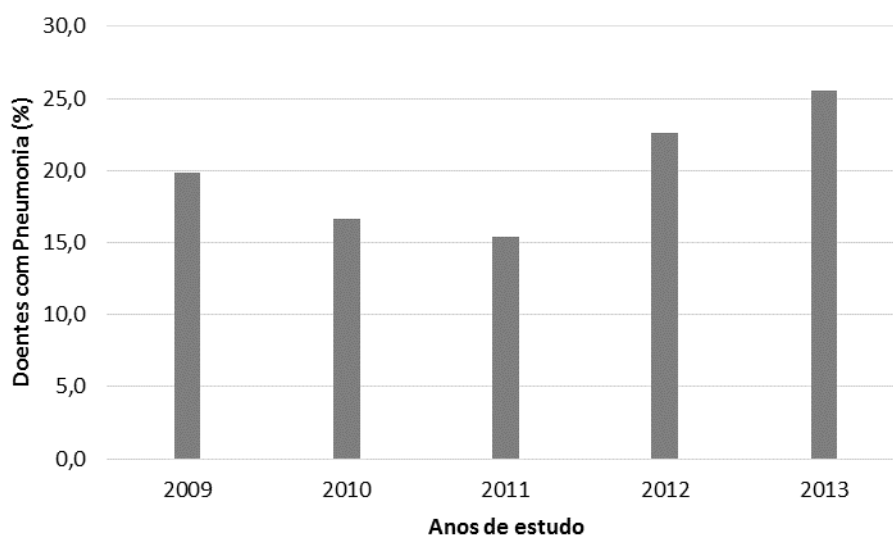


Figura 4 - Evolução dos casos de pneumonia ao longo dos cinco anos de estudo.

Na Figura 5, pode observar-se que os meses de janeiro, março e outubro, foram os mais vulneráveis à ocorrência desta patologia, com uma percentagem de doentes com pneumonia de 9,5%, 9,7% e 9,4% respetivamente. O verão foi a estação do ano em que

foram registados um menor número de casos, com principal destaque para o mês de junho, apenas com uma percentagem de doentes de 7,4%.

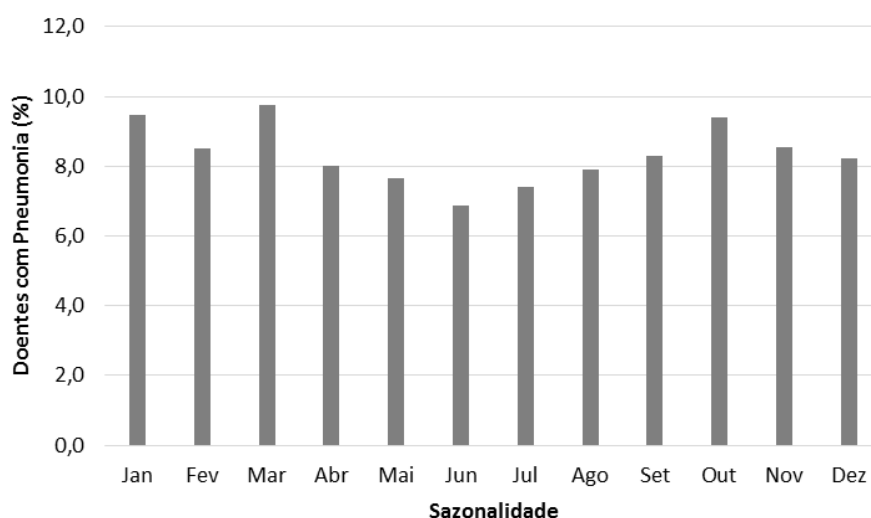


Figura 5 - Distribuição mensal dos doentes com pneumonia diagnosticada nos diferentes meses do ano.

Ao realizar a distribuição anual de pacientes internados e os que se dirigiram à urgência e consulta do CHL foi possível verificar uma diferença comportamental ao longo do tempo. A percentagem de doentes em internamento foi sempre mais elevada do que nos restantes serviços e no último ano 2013, houve um aumento significativo de 4,9% em relação ao ano 2012. A percentagem de pacientes que se dirigiu à urgência também aumentou, mas de uma forma gradual, assim como os doentes que foram às consultas (Figura 6).

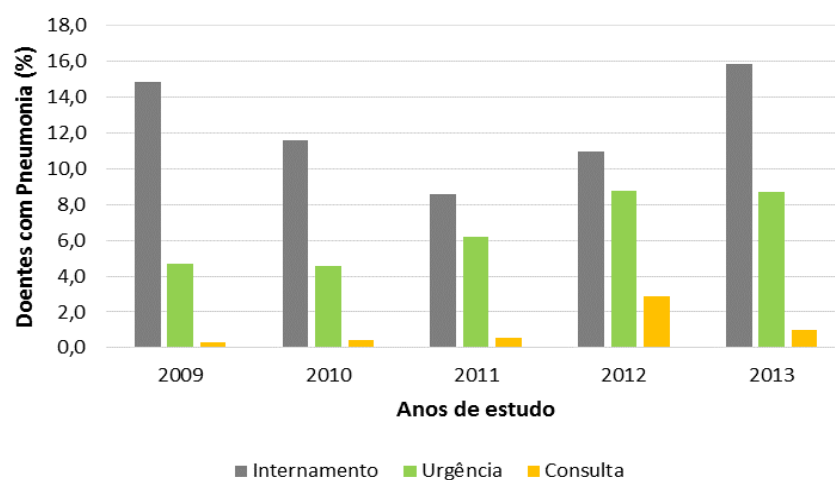


Figura 6 - Distribuição anual dos pacientes que apresentavam pneumonia nos três principais serviços.

O local exato da origem de uma determinada pneumonia ou outra infeção, é importante, para perceber onde se deve ter um maior cuidado na relação entre o profissional de saúde e o doente, de modo a diminuir o número de casos de infeções hospitalares, apesar de ser uma tarefa difícil pois os doentes que estão hospitalizados em determinados serviços são doentes que têm o sistema imunológico muito debilitado. De todos os Serviços onde ocorreram casos de doentes com diagnóstico de pneumonia bacteriana, o que apresentou maior incidência foi o Serviço de Medicina (34,5% - 1016 doentes), seguido pela Urgência (32,9% - 969 doentes). Na categoria de “Outros” foram incluídos o serviço de Ginecologia, Psiquiatria, Urologia e Unidade de Cuidados Especiais de Pediatria (UCEP) (Figura 7).

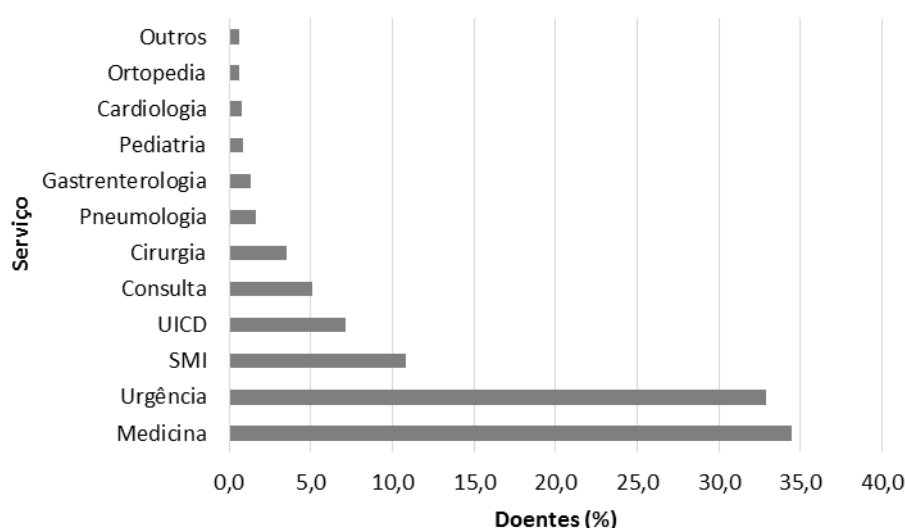


Figura 7 - Doentes diagnosticados com pneumonia nos diferentes serviços do CHL.

4.2. Caracterização microbiológica da população

4.2.1. Amostras biológicas

Nestes cinco anos de estudo, o tipo de amostra biológica enviada com maior frequência para o laboratório de microbiologia, foi a expetoração (87,1%) seguindo-se o aspirado pulmonar (11,3%) e por fim o lavado brônquico (1,6%) (Figura 8). A expetoração, apesar do risco elevado de contaminação por microbiota comensal, continua a ser a amostra mais usual para identificação de agentes etiológicos.

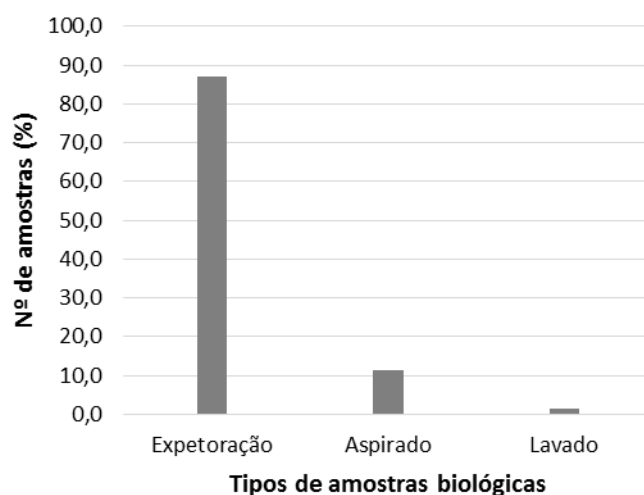


Figura 8 - Tipos de amostras biológicas enviadas para o laboratório de microbiologia.

4.2.2. Isolados bacterianos

Na população de doentes com pneumonia bacteriana, foram valorizados um total de 3904 isolados bacterianos. Determinados doentes apresentavam mais do que uma bactéria responsável pela infeção. A Tabela 4 faz uma descrição de todas as espécies consideradas na qual se destacaram quatro principais agentes etiológicos responsáveis por esta patologia: *Staphylococcus aureus* (24,8%), *Pseudomonas aeruginosa* (24,1%), *Klebsiella pneumoniae* (16,4%) e *Escherichia coli* (8,0%). A maioria destes isolados é causadora de infeções nosocomiais, um forte indicador de que continua a ser no meio hospitalar a maior problemática das infeções bacterianas. Por serem estes quatro microrganismos os principais isolados, todos os restantes resultados apenas incidem sobre eles.

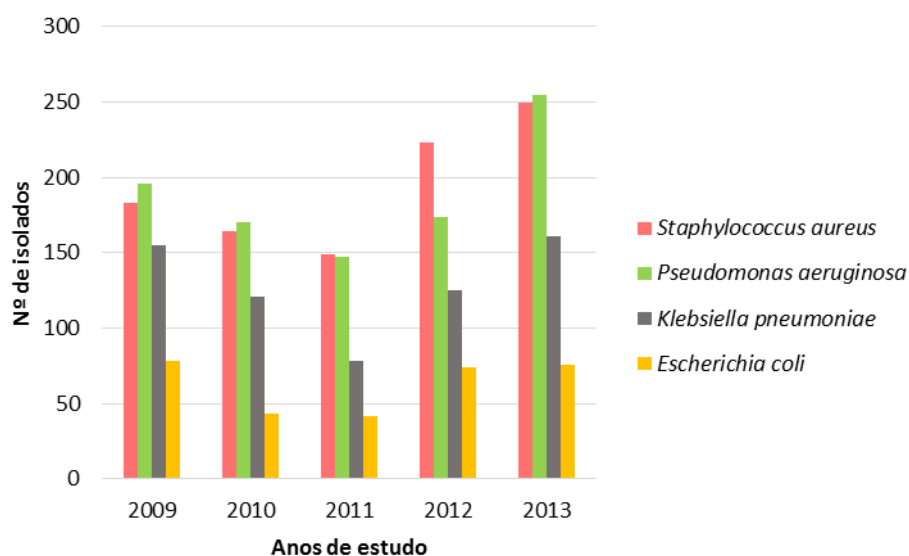
Apesar de ser numa percentagem reduzida, quando comparada com os principais agentes microbianos isolados, existem três bactérias que também estão fortemente associadas às pneumonias como é o caso do *Acinetobacter baumannii* (5,9%), microrganismo oportunista que provoca pneumonias nosocomiais severas, *Streptococcus pneumoniae* (4,2%) e *Haemophilus influenzae* (4,0%) microrganismos associados às PAC.

Na categoria de “Outras” foram incluídas 8 isolados de *Serratia marcescens*, 9 isolados de *Pseudomonas sp.* e 10 isolados de *Moraxella catarrhalis*.

Tabela 4 - Agentes etiológicos isolados de amostras biológicas nos cinco anos de estudo.

Bactérias	Nº de Isolados	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	969	24,8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	942	24,1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	640	16,4
<i>Escherichia coli</i>	313	8,0
<i>Enterobacter sp.</i>	231	5,9
<i>Acinetobacter baumannii</i>	210	5,4
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	165	4,2
<i>Haemophilus influenzae</i>	158	4,0
<i>Morganella morganii</i>	103	2,6
<i>Citrobacter sp.</i>	60	1,5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	47	1,2
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	39	1,0
Outras	27	0,9
Total	3904	100

Uma vez que as pneumonias estão a aumentar nesta unidade hospitalar faz todo o sentido que o número de isolado também esteja a aumentar, como se pode verificar na Figura 9. Observou-se que as espécies *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* aumentaram significativamente nos dois últimos anos de estudo enquanto *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* tiveram um comportamento semelhante ao longo do tempo (Figura 9).

**Figura 9** - Evolução do número de isolados das principais bactérias a partir de amostras biológicas ao longo dos anos de estudo.

Ao realizar-se a distribuição dos microrganismos isolados, pelas diferentes faixas etárias, verificou-se um comportamento muito semelhante para o conjunto de todos os isolados bacterianos estudados. O grupo etário dos idosos foi o mais afetado para as quatro principais bactérias, sendo a faixa etária dos 80-89 anos onde se registou uma maior frequência. A principal diferença entre as espécies bacterianas observou-se na faixa etária dos 0 aos 18 anos, onde a espécie *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* apresentaram uma maior percentagem de isolados em relação às duas restantes bactérias em estudo (Figura 10).

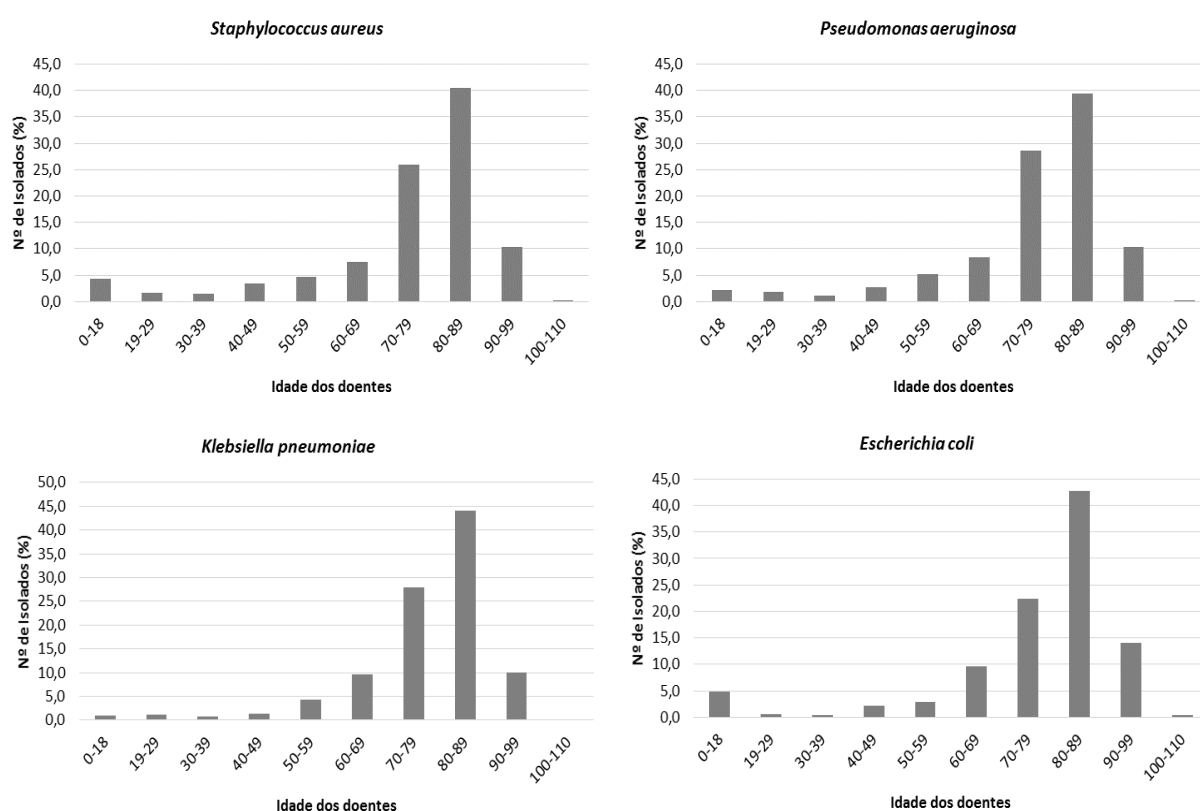


Figura 10 - Variação da frequência de bactérias responsáveis por pneumonia por faixa etária durante o período de estudo.

Perante a organização das espécies bacterianas frequentemente isoladas, pelas diferentes estações do ano, verificou-se para todas as bactérias a existência de uma distribuição semelhante, onde todas apresentam uma menor incidência na Primavera. *Staphylococcus aureus* é o microrganismo mais isolado no inverno (29,1%), já as restantes bactérias Gram negativas tendem a surgir nos meses das estações de verão e outono. (Figura 11)

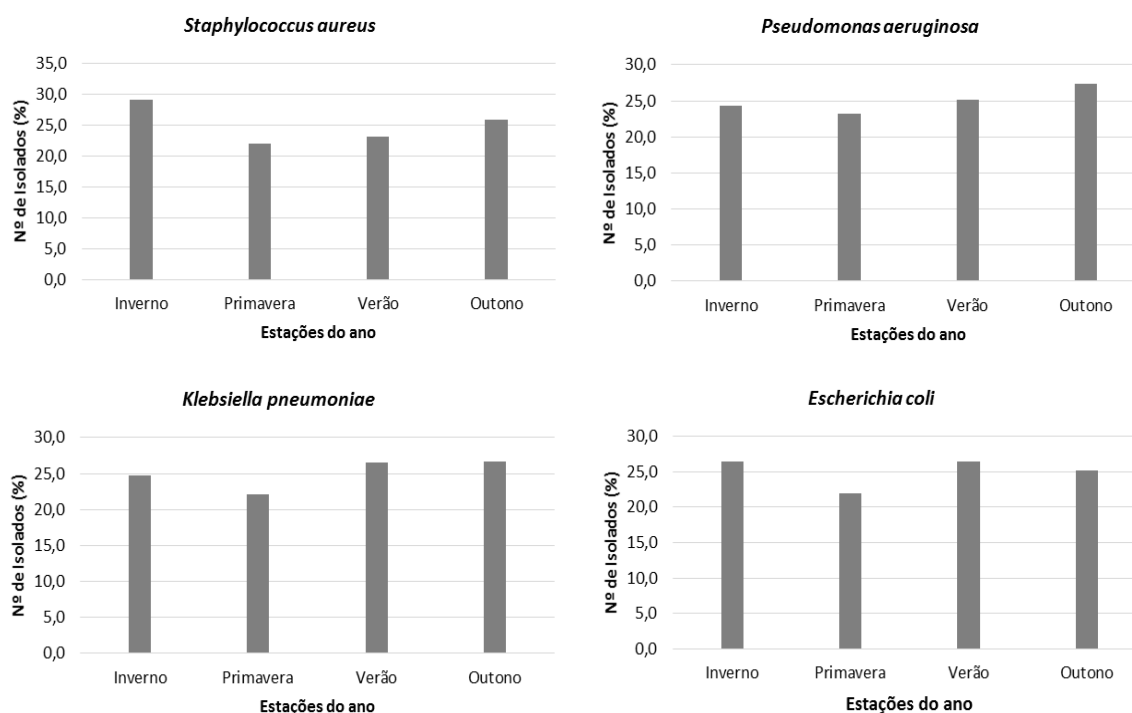


Figura 11 - Evolução das bactérias isoladas nas diferentes estações do ano.

4.2.3. Perfis gerais de resistência aos antibacterianos dos principais isolados bacterianos

4.2.3.1. *Staphylococcus aureus*

Para os 969 isolados de *Staphylococcus aureus*, foram testados dezassete antibacterianos diferentes (Figura 12).

Staphylococcus aureus apresentou maior resistência ao grupo das penicilinas, com 92,1% de isolados resistentes à penicilina G e 66,2% para a oxacilina. Esta espécie exibiu resistências muito semelhantes aos antibacterianos moxifloxacina com 57,7%, à levofloxacina com 58,6%, à clindamicina com 62,5% e à eritromicina com 63,8%. Para o antibacteriano mupirocina a resistência foi de apenas 0,3%.

Dos antimicrobianos testados, apenas cinco exibiram 100% de sensibilidade: vancomicina, teicoplanina, daptomicina, tigeciclina e linezolida.

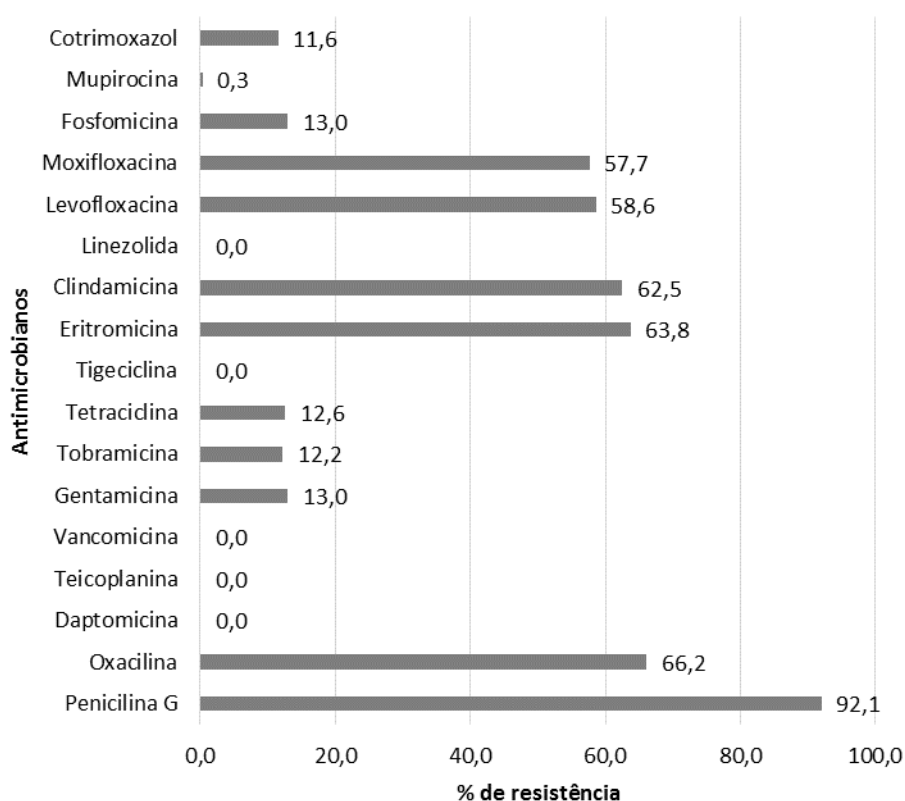


Figura 12 - Percentagem de isolados *Staphylococcus aureus* resistentes aos antibacterianos testados.

4.2.3.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Para os 942 isolados da espécie *Pseudomonas aeruginosa*, foram testados dezassete antibacterianos diferentes (Figura 13).

Verificou-se que *Pseudomonas aeruginosa*, apresentou maior resistência ao cotrimoxazol (99,0%) e à minociclina (89,8%), para o grupo das quinolonas, a espécie apresentou 31,7% de resistência à pefloxacina e 26,0% à ciprofloxacina. No grupo das penicilinas também mostrou algumas resistências, nomeadamente para a piperacilina + tazobactam com 19,5%, piperacilina com 22,4%, ticarcilina + ácido clavulânico com 32,5% e ticarcilina com 32,6%.

Os isolados de *Pseudomonas aeruginosa* apresentaram baixos níveis de resistência à colistina com 1,0%, à cefepima com 3,9% e à amicacina com 4,4%. Curiosamente, para todos os antibacterianos testados verificou-se, pelo menos um isolado resistente.

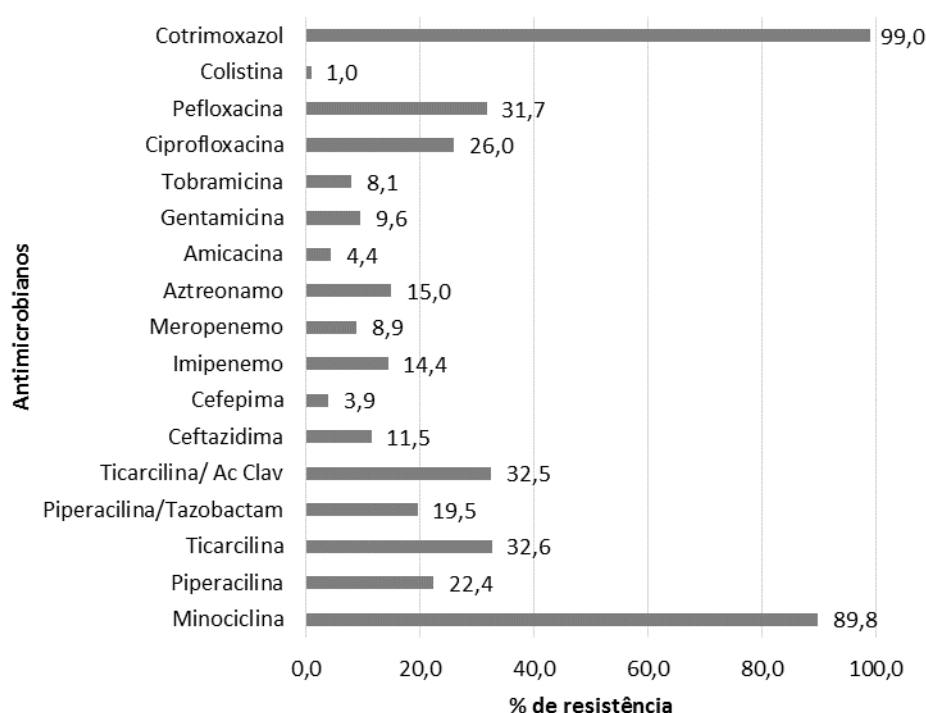


Figura 13 - Percentagem de isolados *Pseudomonas aeruginosa* resistentes aos antibacterianos testados.

4.2.3.3. *Klebsiella pneumoniae*

Para os 640 isolados de *Klebsiella pneumoniae*, foram testados quinze antibacterianos diferentes (Figura 14).

De todos os antibacterianos testados, os isolados de *Klebsiella pneumoniae*, apresentaram uma maior percentagem de resistência ao antibacteriano ampicilina com 99,7%. Para o cotrimoxazol, a cefuroxima e a cefalotina a espécie apresentou resistências semelhantes de 61,9%, 67,3% e 69,1% respetivamente. *Klebsiella pneumoniae* apresentou menor resistência aos antibacterianos do grupo dos carbapenemos, com 0,5% para o meropenemo e 0,6% para o ertapenemo. Apenas para a amicacina apresentou 100% de sensibilidade. Os restantes antibacterianos mostraram resistências médias, entre os 22% e os 57,8%.

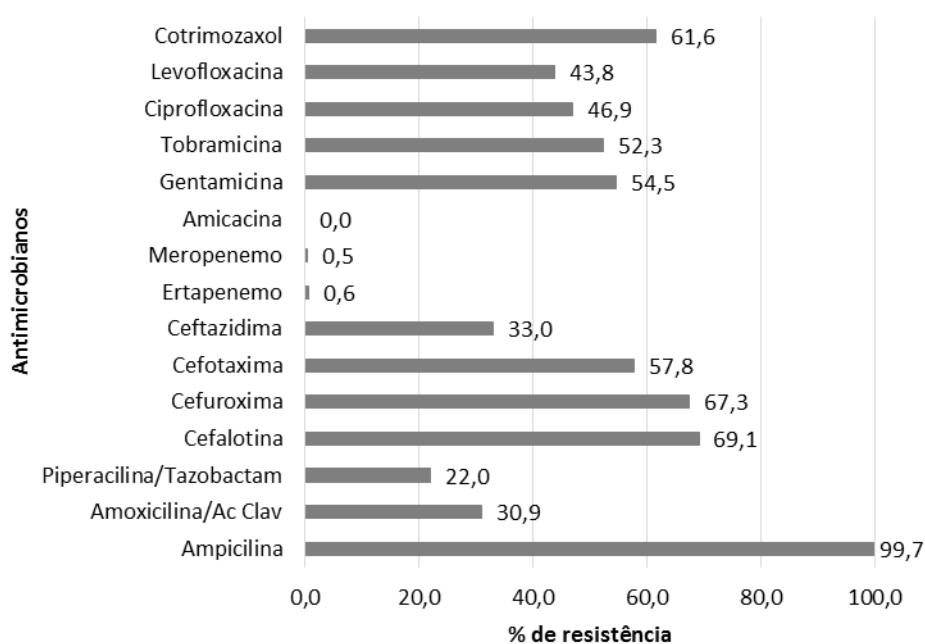


Figura 14 - Percentagem de isolados *Klebsiella pneumoniae* resistentes aos antibacterianos testados.

4.2.3.4. *Escherichia coli*

Para os 313 isolados de *Escherichia coli*, foram testados quinze antibacterianos diferentes (Figura 15).

Os isolados estudados revelam ter elevada resistência à ampicilina com 81,8%. Ao grupo das quinolonas apresentou uma percentagem de resistência de 58,5% à levofloxacina e 59.1% à ciprofloxacina. Dentro das cefalosporinas, os isolados revelaram ter maior resistência à cefalotina com 58,5%, seguindo-se a cefuroxima com 49,8%, a cefotaxima com 43,1% e por fim ceftazidima com apenas 11,2%. *Escherichia coli* foi 100% sensível à amikacina, meropenemo e ertapenemo.

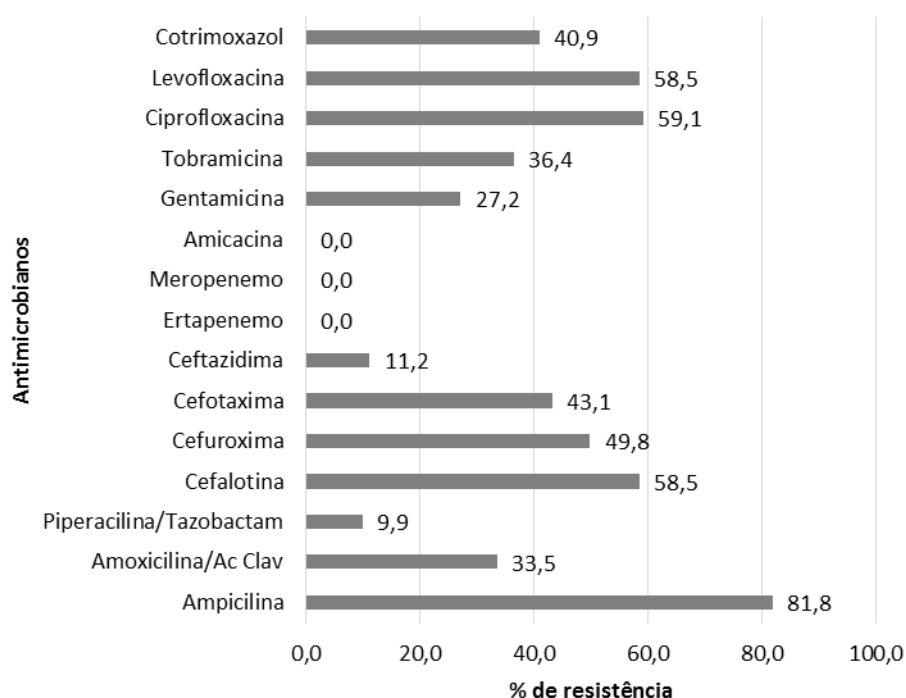


Figura 15 - Percentagem de isolados *Escherichia coli* resistente aos antibacterianos testados.

4.2.4. Evolução dos perfis gerais de resistência aos antibacterianos dos principais isolados bacterianos ao longo do tempo

4.2.4.1. *Staphylococcus aureus*

Ao longo do período de estudo, para os isolados de *Staphylococcus aureus*, observou-se um pequeno aumento de resistência ao grupo das quinolonas e uma diminuição de resistência ano após ano, para o grupo dos aminoglicosídeos, tetraciclina e sulfonamidas + trimetoprim. Para os antibacterianos penicilina, clindamicina e eritromicina de uma forma geral, observou-se um comportamento de resistência semelhante ao longo dos 5 anos (Figura 16).

4.2.4.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Para os isolados de *Pseudomonas aeruginosa* observou-se um aumento acentuado de resistência para o carbapenemo impenem e para a tetraciclina minociclina. Nesta última o aumento foi considerável do ano 2009 para 2010, tendendo a estabilizar nos últimos quatro anos com uma elevada percentagem de resistência. A resistência a ceftazidima e a piperacilina + tazobactam, também aumentou ligeiramente.

Os padrões de evolução da resistência aos aminoglicosídeos e ao monobactâmico aztreonam mostraram-se bastante variáveis ao longo do tempo. Para as penicilinas ticarcilina e ticarcilina + ácido clavulânico houve uma diminuição do ano 2009 para o 2010, mantendo-se constante nos seguintes anos. Os restantes antibacterianos têm-se mantido constantes ao longo do tempo de estudo, com uma percentagem de resistência média, salvo a exceção do antibacteriano cotrimoxazol que apresentou elevadas percentagens de resistências em todos os anos de estudo (Figura 17).

4.2.4.3. *Klebsiella pneumoniae*

Quanto a *Klebsiella pneumoniae*, de um modo geral, observou-se um aumento de resistência, comparando os anos de 2009 e 2013, para a tobramicina, para a cefalosporina cefotaxima e para o grupo das quinolonas. Para o antibacteriano tobramicina, o ano em que se verificou um aumento significativo foi de 2009 para 2010.

A ampicilina, o cotrimoxazol, a cefalotina e a cefuroxima tem mostrado um comportamento semelhante de resistência ao longo dos anos. Para este isolado apenas se verificou uma diminuição da resistência à gentamicina (Figura 18).

4.2.4.4. *Escherichia coli*

De um modo geral, a espécie *Escherichia coli*, foi a que mostrou um aumento de resistência na maioria dos antibacterianos testados. O grupo dos aminoglicosídeos tem vindo a aumentar, assim como o grupo das quinolonas, a penicilina ampicilina, o cotrimoxazol e o grupo das cefalosporinas com a exceção da ceftazidima. A amoxicilina + ácido clavulânico e a piperacilina + tazobactam, comparando os anos entre 2009 e 2013 têm-se mostrado constantes. Esta espécie bacteriana mostrou apenas uma diminuição pouco acentuada de resistência à cefalosporina ceftazidima (Figura 19).



Figura 16 - Evolução da resistência de *Staphylococcus aureus* aos antibacterianos ao longo dos anos de estudo.

Prevalência de Pneumonias no Centro Hospitalar de Leiria, E.P.E

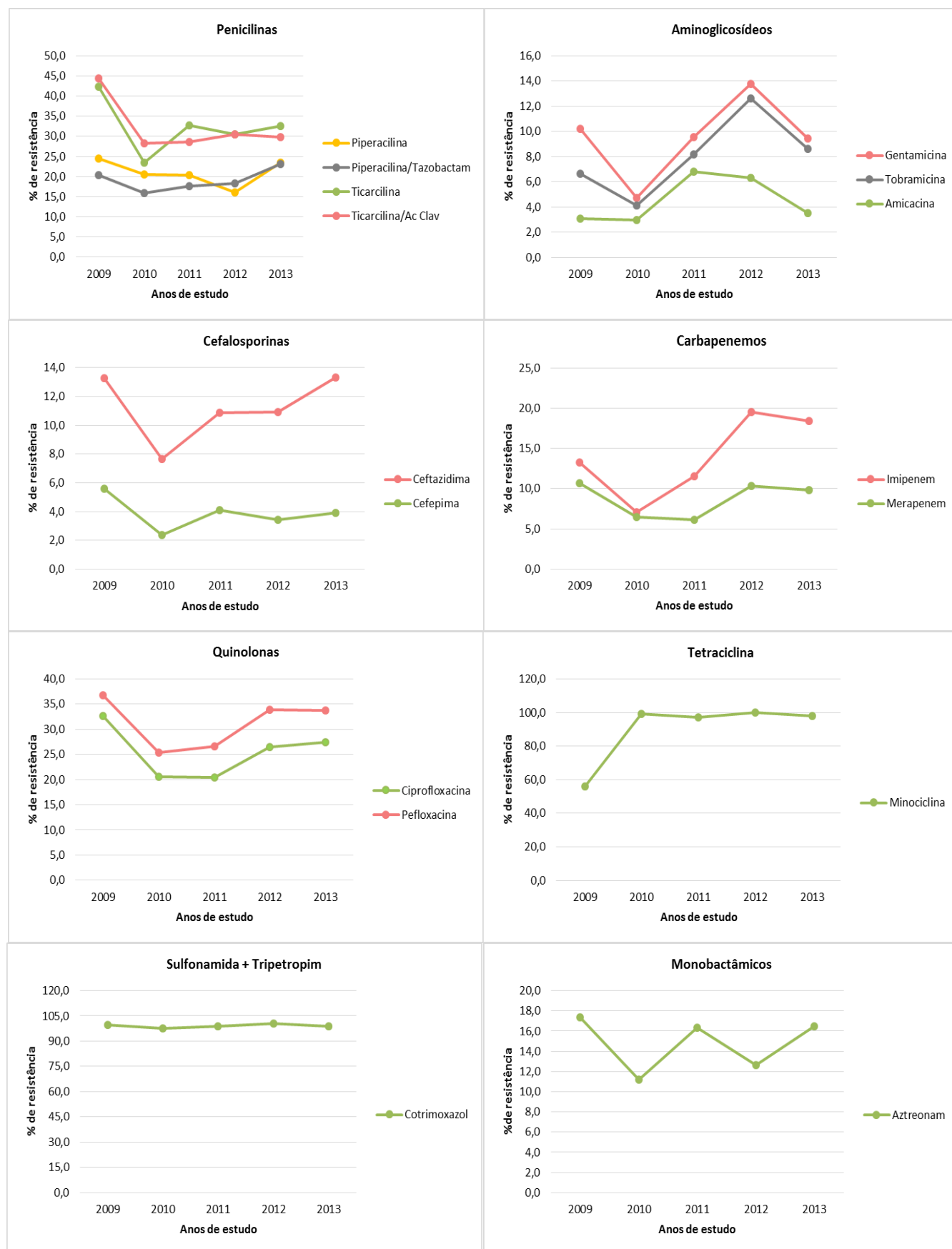


Figura 17 - Evolução da resistência de *Pseudomonas aeruginosa* aos antibacterianos ao longo dos anos de estudo.

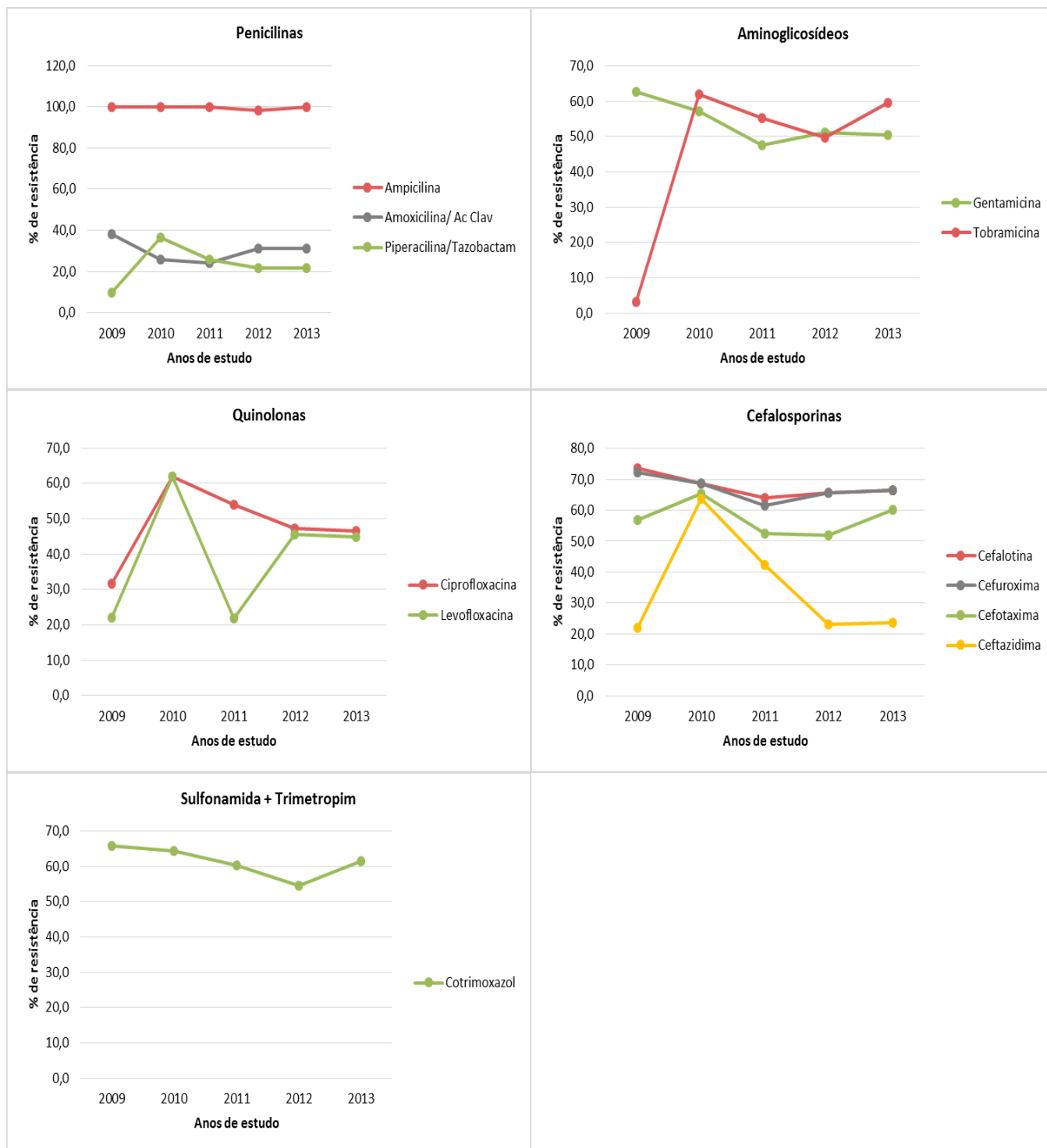


Figura 18 - Evolução da resistência de *Klebsiella pneumoniae* aos antibacterianos ao longo dos anos de estudo.

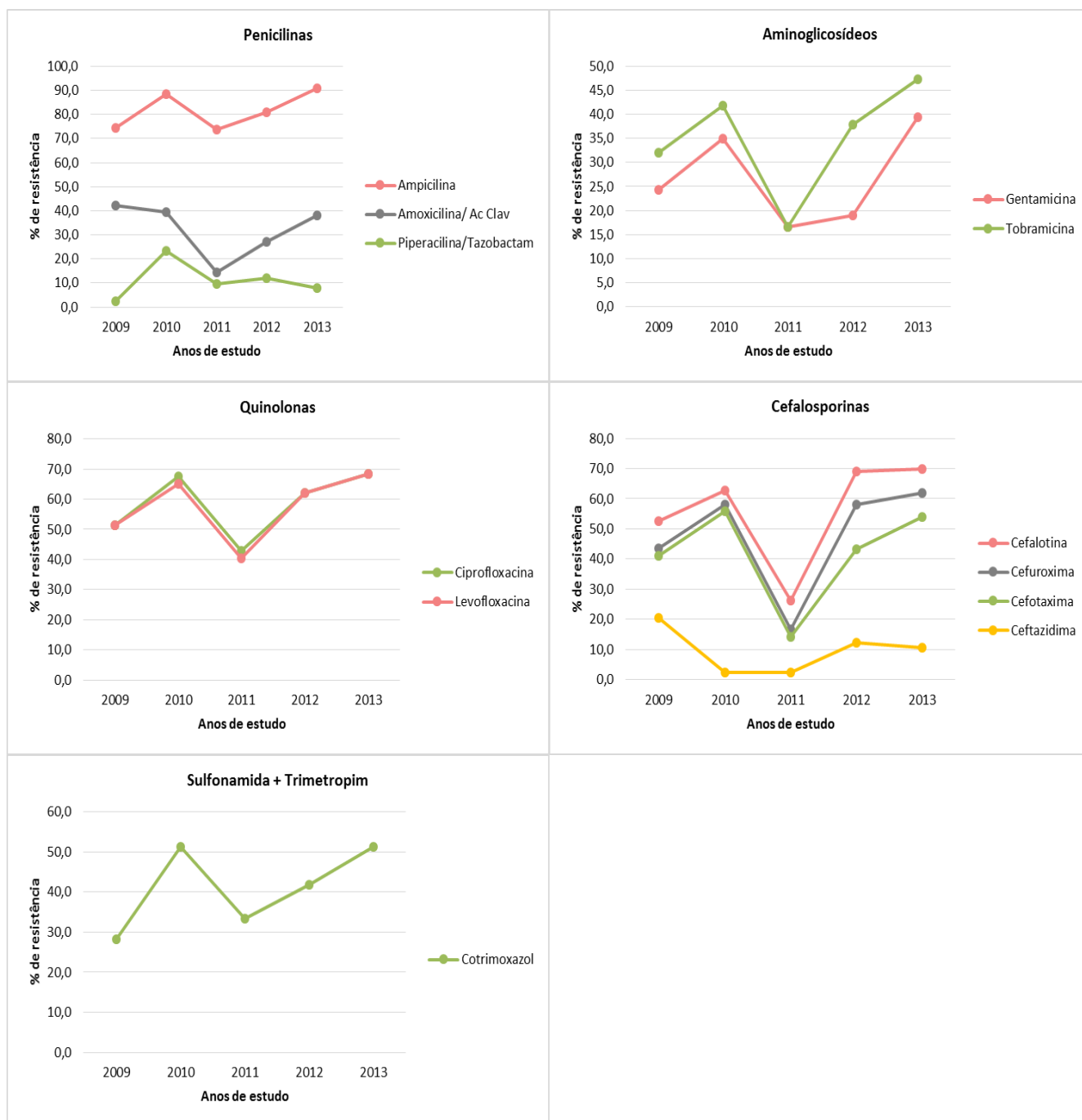


Figura 19 - Evolução da resistência de *Escherichia coli* aos antibacterianos ao longo dos anos de estudo.

5. Discussão

5.1. Caracterização da população

A pneumonia bacteriana continua a ser uma das patologias que afeta o trato respiratório inferior com maior incidência em Portugal e ano após ano, tem vindo a aumentar consideravelmente. Por consequência os gastos económicos associados são elevados assim como as taxas de internamento e mortalidade (22). Através deste estudo retrospectivo e pioneiro, tanto a nível nacional como regional, na caracterização multifacetada da população de doentes por pneumonia do CHL, foi possível verificar essa mesma realidade que afeta o país, o número de casos de doentes por pneumonia aumentou consideravelmente nos dois últimos anos. Este aumento da doença verificado no CHL, poderá ser justificado pela integração das duas novas instituições hospitalares.

Com a informação clínica obtida foi possível confirmar que a pneumonia bacteriana é uma doença que atinge todos os escalões etários, no entanto afeta principalmente o grupo dos idosos, indivíduos acima dos 65 anos (22). Para este estudo os pacientes contabilizados, foram num total de 2945 doentes, sendo os inseridos na faixa etária superior a 80 anos, ou seja 60,3% de toda a população, que se verificou uma maior ocorrência de pneumonia e com maior prevalência, 65,5% nos doentes do sexo masculino. Resultados que estão de acordo com outros autores com estudos semelhantes em outros países (24, 48, 52). Trata-se, portanto, de uma população idosa, o que significa que o fator envelhecimento tem um grande impacto atualmente na saúde (18). Com o passar dos anos, as alterações morfológicas pulmonares do organismo associados a estilos de vida menos saudáveis predispõem o aparecimento de doenças e o aumento do risco de morte. Este grupo de pacientes torna-se vulnerável devido a outros fatores como: a diminuição natural das defesas do sistema imunitário causada por outras patologias para além de uma pneumonia, à perda de capacidades motoras, à necessidade de por vezes, recorrer a processos invasivos no meio institucional e hospitalar nomeadamente o uso de sondas nasais, urinárias, cateteres, ventiladores, cirurgia e outros processos que alterem de alguma forma o bem-estar dos pacientes, à recorrente e prolongada antibioterapia que predispõem à colonização e infeção de microrganismos, ao estatuto social e económico em que o paciente está inserido, à falta de acesso aos cuidados de saúde básicos e à exposição durante anos de poluentes ambientais (16-18).

Segundo a OMS, as crianças também são um grupo de risco, onde a incidência da doença é elevada em todo o mundo, principalmente em países de fraco ou médio desenvolvimento. As pneumonias nestes países são graves e as taxas de mortalidade elevadas, devido às condições precárias, à escassez de recursos alimentares, sociais, económicos e falta de assistência médica. Em Portugal, segundo os dados do relatório do ONDR em 2013, o número de internamentos por pneumonia no ano 2012 de doentes com idades <18 anos foram de 3005 casos. Neste estudo as crianças, apesar de serem apenas 4,9%, correspondente a 116 casos (2,7% - sexo masculino; 2,2% - sexo feminino) de toda a população é notável que também são afetadas pela doença. Uma possível explicação estará relacionada com a anatomia do trato respiratório, quanto mais nova é a criança, mais estreitas são as suas vias aéreas e os seus mecanismos de defesa imunológicos imaturos, o que dificulta a produção de anticorpos contra antígenos. É de salientar que apesar de Portugal ser um país desenvolvido e haver esforços nítidos para melhorar todas as condições básicas ainda existe pobreza social e falta de assistência básica (23).

A doença ocorre com maior frequência nos homens do que nas mulheres, este acontecimento pode ser explicado devido à menor esperança de vida à nascença dos homens e à perda das suas funções pulmonares a uma taxa superior relativamente às mulheres (17). Contudo também tem de se ter em conta a possibilidade de a região de Leiria ter uma maior percentagem de habitantes do sexo masculino em relação ao sexo feminino.

Os meses com maior incidência desta infeção foram janeiro, março e outubro, são meses onde há alterações climáticas nomeadamente as temperaturas baixas e o ar torna-se seco, desta forma o comportamento das pessoas tende a ser alterado, permanecendo durante longos períodos em locais fechados e sem ventilação, por consequência as defesas do organismo tornam-se suscetíveis à contaminação por bactérias causadoras de infeções (53).

Ao longo dos anos de estudo, as taxas de internamento mantiveram-se sempre elevadas, porém o número de indivíduos que se dirigiram à urgência e às consultas aumentou ligeiramente. Atualmente, a decisão de internamento, ou não de um paciente,

é um fator muito importante que tem de ser levado em consideração em conjunto com uma rigorosa avaliação clínica e social (6, 47). Quanto maior a precisão nestes critérios melhor será a decisão do médico. Pois, caso se interne um doente com baixo risco de mortalidade ou de agravamento da doença, vai haver como consequência a prescrição inadequada de antibacterianos, ocorrendo um elevado risco de adquirir outras doenças nosocomiais e haver um aumento nos custos dos recursos de saúde (25,47).

O serviço de Medicina foi o que apresentou uma maior percentagem de doentes com pneumonia (34,5%), este resultado seria de esperar uma vez que é neste serviço que existe maior prevalência de co-morbilidade, nomeadamente doentes com hipertensão arterial, insuficiência cardíaca e outras doenças crónicas, que tornam estes doentes com um estado de saúde muito debilitado, com antibioterapia que exerce pressão seletiva na microbiota endógena e favorece a colonização de microrganismos patogénicos multirresistentes (54).

Neste estudo devido ao inaccessos dos processos clínicos dos pacientes, não foi possível fazer algumas avaliações de parâmetros que seriam interessantes correlacionar, como: associar quais as co-morbilidades associadas ao doente, agrupar sem quaisquer dúvidas todas as pneumonias de acordo com a sua classificação atual, saber qual a terapia administrada, não foi possível correlacionar todo o diagnóstico clínico com o laboratorial, o número de óbitos e os dias de internamento. No entanto, o facto de este trabalho ser pioneiro na Região de Leiria, torna-o interessante e útil principalmente para as entidades médicas do CHL.

5.2. Caracterização microbiológica

Segundo o último consenso nacional, ainda existe a ausência de *gold standart* para o diagnóstico definitivo de pneumonia, porem atualmente consideram-se dois tipos de estratégias: a clínica e a microbiológica, que em conjunto devem obter de forma precisa e rápida o melhor diagnóstico e tratamento para um doente com pneumonia. De forma resumida ambos os critérios têm como objetivo, a recolha de secreções respiratórias para o exame direto (Gram) e cultural com o fim de identificar com precisão e num curto espaço de tempo, o microrganismo patogénico implicado e qual o

antibacteriano mais adequado (6). A estratégia clínica por vezes é condicionada pelos doentes assintomáticos em que não apresentam a maioria dos sintomas clínicos característicos, este fenómeno ocorre maioritariamente em idosos, devido às comorbilidades associadas o que dificulta ainda mais a deteção inicial da doença pelos profissionais de saúde (19,21). Contudo, na estratégia microbiológica muitos dos resultados dos exames das secreções respiratórias são considerados negativos ou inespecíficos, devido principalmente às más colheitas dos produtos biológicos. Em muitos casos a amostra biológica recolhida do paciente vem contaminada em parte pela da microbiota comensal das vias aéreas superiores (6,28). Neste estudo apenas foram consideradas as amostras positivas, não tendo meio de comparar com o número de amostras negativas existentes no CHL. Para além das amostras biológicas inviáveis existem outros condicionantes que permitem dar um resultado falso-negativo, nomeadamente a administração de antibioterapia antes da colheita do produto ou por vezes no laboratório já não se consegue isolar o agente etiológico responsável pela doença, devido ao seu comportamento *in vivo* ser diferente do *in vitro* (6,55). Por exemplo, a espécie bacteriana *Streptococcus pneumoniae*, é nutricionalmente exigente sendo frequentemente cultivada em meios enriquecidos, contudo não tem capacidade de produzir duas enzimas a catalase e peroxidase, a ausência destas enzimas limita o seu crescimento *in vitro*, uma vez que o peróxido de hidrogénio não é degradado e a sua acumulação é tóxica para a bactéria (55). Todas estas limitações apontadas permitem afirmar que muitas das pneumonias não são devidamente detetadas ou por vezes não se consegue identificar o agente etiológico responsável, o que significa que o número de casos na realidade é mais elevado do que o atual.

Num total de 3904 isolados bacterianos em amostras biológicas de doentes com pneumonia, as espécies que se destacaram foram *Staphylococcus aureus* (24,8%), *Pseudomonas aeruginosa* (24,1%), *Klebsiella pneumoniae* (16,4%) e *Escherichia coli* (8,1%). Estes resultados obtidos estão de acordo com outros estudos desenvolvidos em Portugal e noutros países (24, 31). As principais bactérias patogénicas isoladas neste trabalho são maioritariamente responsáveis pelas pneumonias nosocomiais, um forte indicador de que continua a ser no meio hospitalar a maior problemática das infeções

bacterianas, tal como descrito na literatura (6). *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* foram os principais agentes patogénicos isolados nas amostras biológicas de doentes com pneumonia. *Staphylococcus aureus* é um microrganismo que se encontra frequentemente na pele e na cavidade nasal da população, a maioria dos portadores são assintomáticos e o processo de infeção normalmente está associado a algum fator que diminui a resposta imunológica do indivíduo, como doenças, tratamentos prolongados e agressivos, ou procedimentos médicos invasivos, que abrem uma via de acesso para a bactéria. (56,57). *Pseudomonas aeruginosa* causa pneumonia principalmente por contaminação dos ventiladores e em doentes debilitados ou com feridas. Uma vez estabelecida é muito virulenta, pois produz toxinas, hemolisinas e proteases que libertam para o meio circundante, danificando tecidos e destruindo as defesas imunitárias do hospedeiro (57). O facto de estas bactérias serem maioritariamente oportunistas e surgirem em doentes idosos e com o sistema imunológico debilitado poderá explicar a elevada frequência desta bactéria em pneumonias a nível hospitalar (24,31).

É de referir ainda, através dos resultados obtidos que a PAC também foi uma das causas de doença nos pacientes do CHL. Não foi possível determinar com certeza absoluta o número de pacientes que adquiriram a doença, porém ao analisar os agentes etiológicos isolados é possível afirmar a sua influência na população em estudo. Segundo a literatura os principais agentes etiológicos responsáveis por este tipo de pneumonia são *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae* (25,27). Neste estudo estes agentes patológicos apresentaram-se respetivamente, como a sétima e oitava causa de pneumonia, o que correspondeu a uma percentagem de 4% para ambas as espécies.

5.3. Perfis gerais de resistência aos antibacterianos testados para os principais isolados bacterianos e sua evolução ao longo do tempo

Relativamente à evolução temporal da resistência dos principais microrganismos aos antibacterianos testados, de uma forma geral não se observou um aumento significativo para a maioria dos grupos.

Staphylococcus aureus manteve-se com resistência elevada à penicilina-G, ao longo de todo o tempo de estudo, em média com uma percentagem de resistência de

92,1%, um resultado esperado dada a prevalência de resistência às penicilinas naturais. Nos Estados Unidos cerca de 90% de *Staphylococcus aureus*, quer a nível hospitalar quer a nível comunitário apresentam resistência a estes antibacterianos (59). Relativamente à oxacilina, verificou-se que nos dois últimos anos de estudo a resistência era acima dos 60%, claramente superior à oxacilina/meticilina a nível nacional (53,8%) segundo o relatório de 2012 do sistema europeu EARSS. O grupo das quinolonas foi o único que aumentou de forma pouco significativa. Relativamente à resistência do microrganismo *Staphylococcus aureus* aos antibacterianos gentamicina, tetraciclina e cotrimoxazol verificou-se um decréscimo significativo ao longo do tempo pelo que estes antibacterianos podem ainda ser uma opção terapêutica (59). De modo ainda a combater *Staphylococcus aureus* novos antibacterianos foram desenvolvidos, tais como: vancomicina, teicoplanina, linezolida, daptomicina, e tigeciclina (57). Neste estudo, todos os isolados apresentaram 100% de sensibilidade para estes antibacterianos, porém de acordo com a literatura já surgiram *Staphylococcus aureus* com resistência intermédia à vancomicina (VISA) e mais recentemente com resistência à vancomicina (VRSA) (60).

Para *Pseudomonas aeruginosa* verificou-se elevada percentagem de resistência ao cotrimoxazol e minociclina ao longo dos anos de estudo pelo que estes antibacterianos não devem fazer parte das escolhas terapêuticas. Apesar das oscilações, durante o período de estudo, os restantes antibacterianos testados apresentaram resistências inferiores a 33%. Para o grupo dos carbapenemos meropenemo e imipenemo neste trabalho verificou-se uma resistência de 8,9% e 14,4% respetivamente, valores positivos quando comparados com os valores do sistema europeu EARSS que a nível nacional o valor é de 20,3% para este grupo de antibacterianos. Para o grupo das quinolonas (pefloxacina e ciprofloxacina) a resistência média que se verificou foi de 28,8%, valor acima da média quando comparado com o nível nacional (25,6%) (61). Os aminoglicosídeos a nível nacional apresentam uma resistência média de 14,7% e neste estudo a resistência da espécie *Pseudomonas aeruginosa* foi apenas de 7,4% (61). Para a piperaciclina + tazobactam a média de resistência no estudo (19,5%) foi muito semelhante à da União Europeia (EU) (19,8%) (61). Contudo é de salientar que dos dezasseis antibacteriano testados, não houve nenhum com 100% de sensibilidade,

indicador de que não há alternativas terapêuticas a curto prazo para o tratamento de pneumonias por *Pseudomonas aeruginosa*.

Para as bactérias patogénicas *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* verificou-se em média as mesmas percentagens de resistências aos antibacterianos testados, sendo a ampicilina o antibacteriano que durante o período de estudo que permaneceu com percentagem de resistência 81,8% para a espécie *Escherichia coli* e 99,7% para a espécie *Klebsiella pneumoniae*. Para ambas as espécies atualmente a amicacina, o meropenemo e ertapenem são dos antibacterianos mais eficazes, porem a *Klebsiella pneumoniae* já apresenta resistência ao meropenemo e ertapenemo com uma percentagem mínima de 0,5% e 0,6% respetivamente, (0,7% de resistência a nível nacional). Para a espécie *Klebsiella pneumoniae* a média de resistência para o grupo dos aminoglicosídeos (35,6%), quinolonas (45,4%) e cefalosporinas de 3ª geração (45,4%) foram sempre superiores aos dos níveis nacionais, 31,8%, 35,8% e 38,7% respetivamente (61). O mesmo se verificou para a espécie *Escherichia coli*, em que a média de resistência durante o tempo de estudo para o grupo dos aminoglicosídeos foi de 21,2%, para as quinolonas de 58,8% e cefalosporinas de 3ª geração de 27,1% foram superiores aos dos níveis nacionais, 16,3%, 30,3% e 13,5% respetivamente (61).

6. Conclusão

Para a população de doentes estudada com o diagnóstico de pneumonia bacteriana, no CHL, verificou-se através dos resultados obtidos que as pneumonias estão a aumentar e que o sexo masculino é o mais vulnerável à doença, independentemente do grupo etário em causa, porém é notável que a pneumonia começa a incidir nos indivíduos com idade superior aos 65 anos, sendo a faixa dos 80-89 anos a mais afetada. Trata-se portanto de uma população idosa, em que muitas vezes estão associados mais do que uma co-morbilidade e outros fatores que condicionam de forma grave o estado de saúde destes pacientes.

Tal como observado noutros estudos, os agentes etiológicos mais frequentes foram *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*, o que nos indica que a PN é a que ocorre com maior frequência e a que afeta um maior número de pacientes idosos. O meio hospitalar é portanto um foco de infeções com MMR associados.

Staphylococcus aureus apresentou maior percentagem de resistência ao grupo das quinolonas, penicilinas e aos antibacterianos clindamicina e eritromicina. A *Pseudomonas aeruginosa* apresentou elevadas percentagens de resistências aos antibacterianos minociclina e cotrimoxazol. Por fim em relação à resistência aos antibacterianos, verificou-se que as espécies Gram-negativas *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* apresentavam maior percentagem de resistência aos grupos das quinolonas, aminoglicosídeos, cefalosporinas e penicilinas. De uma forma geral, os resultados obtidos na evolução dos padrões de resistências ao longo do tempo de estudo não seguem uma tendência geral, em algumas espécies os resultados até foram diferentes quando comparados com os estudos de dados nacionais.

Este trabalho desenvolvido pretendeu de alguma forma contribuir para os escassos dados epidemiológicos, clínicos e etiológicos que existem em Portugal sobre as pneumonias. A avaliação dos padrões de resistência aos antibacterianos possibilita à instituição perceber quais os antibacterianos que estão a deixar de fazer o seu efeito e quais são as alternativas futuras para uma terapêutica adequada.

7. Referências bibliográficas

1. Guimarães C, Lares CS, Costa F, Barata F. Pneumonia associated with health care versus community acquired pneumonia: different entities, distinct approaches. *Rev Port Pneumol*. 2011 Jul-Aug;17(4):168-71.
2. Pascale GD, Bello G, Antonelli M. Steroids in severe pneumonia: a literature review. *Minerva Anesthesiol*. 2011 Sep;77(9):902-10.
3. Torres A, Peetermans WE, Viegi G, Blasi F. Risk factors for community-acquired pneumonia in adults in Europe: a literature review. *Thorax*. 2013 Nov;68(11):1057-65
4. Leroy O, Jaffré S, Décrivan T. Hospital-Acquired Pneumonia. Risk factors for antimicrobial-resistant causative pathogens in critically ill patients. *Chest*. 2003 Jun; 123:2034-42.
5. Niederman MS. Hospital-Acquired Pneumonia, Health Care-Associated Pneumonia, Ventilator-Associated Pneumonia, and Ventilator-Associated Tracheobronchitis: Definitions and Challenges in Trial Design. *Clin Infect Dis*. 2010 Aug; 1(51):12-17.
6. Froes F, Paiva JA, Amaro P, Baptista JP, Brum G, Bento H, Duarte P, Dias CS, Glória C, Estrada H, Telo L, Silva E, Pereira JG, Carmo G. Documento de Consenso sobre Pneumonia Nosocomial. *Rev Port Pneumol*. 2007; 13(3): 419-486..
7. Marques N, Araújo F, Soares JD. Infecções e antibioterapia num Serviço de Medicina. *Med-Interna*. 2005 Dez; 12: 203-208.
8. Luís AS, Sotto-Mayor R. *Altas de pneumologia*. 1ed. Portugal: Permanyer; 2010.
9. Gaga M, Vignola AM, Chanez P. Upper and lower airways: similarities and differences. *Eur Respir Mon*. 2001; 18: 1–15.
10. Person, A., Mintz, M. L., *Anatomy and Physiology of the Respiratory Tract*. Humana Press. 2006; 1: 2-5
11. Cordeiro R. *Pneumologia fundamental*. 1 ed. Portugal: Fundação Calouste Gulbenkian; 1995.
12. Lépori LR. *Atlas aparelho respiratório*. 1ed. Portugal: Clynna; 2007.
13. Fischer H, Widdicombe JH. Mechanisms of acid and base secretion by the airway epithelium. *J Membr Biol*. 2006; 21(3):139-50.
14. Martin TR, Frevert CW. Innate immunity in the lungs. *Proc Am Thorac Soc*. 2005 Dec; 2(5):403-11.
15. Arosa FA, Cardoso EM, Pacheco FC. *Fundamentos de Imunologia*. Portugal: Lidl; 2005.

16. Pruthi N, Multani NK. Influence of Age on Lung Function Tests. *J Exerc Sci Phys*. 2012; 8(1): 1-6.
17. Griffith KA, Sherrill DI, Siegel EM, Manolio TA, Bonekat HW, Enright PL. Predictors of Loss of Lung Function in the Elderly. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Jan; 163: 61–68.
18. Ruivo S, Viana P, Martins C, Baeta C. Efeito do envelhecimento cronológico na função pulmonar. Comparação da função respiratória entre adultos e idosos saudáveis. *Rev Port Pneumol*. 2009 Ago;15(4): 629-653.
19. Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Maritn JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL. *Harrison's principles of internal medicine*. 17 ed. New York: McGraw-Hill; 2008.
20. Mizgerd JP. Acute Lower Respiratory Tract Infection. *N Engl J Med*. 2008 Feb; 358:716-27.
21. Carneiro AA, Neutel E. *Curso de Evidência na Emergência - Manual de Fundamentos*. 1ª ed. Porto: Multitema, S.A.; 2008.
22. Araújo AT. Prevenir a doença acompanhar e reabilitar o doente. *Observatório Nacional de Doenças Respiratórias*. 2013. [Setembro 2014] Disponível em: http://www.fundacaoportuguesadopulmao.org/Relatorio_ONDR_2013.pdf
23. Ladhani S, Heath PT, Slack MP, McIntyre PB, Diez-Domingo J, Campos J, Dagan R, Ramsay ME. Antibody concentration and clinical protection after Hib conjugate vaccination in the United Kingdom. *Jama*, 2000 Nov;284(18):2334-40.
24. Calisto R, Soares M, Pereira IP, Barreto V. Pneumonias nosocomiais – Estudo retrospectivo. *Rev Soc Port Med Int*. 2013 Dez; 20 (4): 157-164.
25. Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, Bartlett JG, Campbell GD, Dean NC, Dowell SF, File TM Jr, Musher DM, Niederman MS, Torres A, Whitney CG. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society Consensus Guidelines on the Management of Community-Acquired Pneumonia in Adults. *Clin Infect Dis*. 2007 Mar; 44(2):27-72.
26. Julián-Jiménez A, Palomo de los Reyes MJ, Parejo Miguez R, Laín-Terés N, Cuena-Boy R, Lozano-Ancín A. Improved management of community-acquired pneumonia in the emergency department. *Arch Bronconeumol*. 2013 Jun; 49(6):230-40.
27. Bartlett JG. Diagnostic tests for agents of community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis*. 2011 May; 52 (4): 296-304.

28. American Thoracic Society, Infectious Diseases Society of America. Guidelines for the Management of Adults with Hospital-acquired, Ventilator-associated, and Healthcare-associated Pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005 Feb; 171: 388–416.
29. Polverino E, Torres A, Menendez R, Cillóniz C, Valles JM, Capelastegui A, Marcos MA, Alfageme I, Zalacain R, Almirall J, Molinos L, Bello S, Rodríguez F, Blanquer J, Dorado A, Llevat N, Rello J. Microbial aetiology of healthcare associated pneumonia in Spain: a prospective, multicentre, case-control study. *Thorax*. 2013 Nov;68(11):1007-14.
30. Chalmers JD, Taylor JK, Singanayagam A, Fleming GB, Akram AR, Mandal P, Choudhury G, Hill AT. Epidemiology, Antibiotic Therapy, and Clinical Outcomes in Health Care–Associated Pneumonia: A UK Cohort Study. *Clin Infect Dis*. 2011 Jul; 15; 53(2):107-13.
31. Jones RN. Microbial etiologies of hospital-acquired bacterial pneumonia and ventilator-associated bacterial pneumonia. *Clin Infect Dis*. 2010 Aug 1;51: 81-7.
32. Dhar R. Pneumonia : Review of Guidelines. *J Assoc Physicians India*. 2012 Jan; 60:25-8
33. Sousa JC. Manual de Antibacterianos Antibacterianos 2ªed. Porto. Universidade Fernando Pessoa; 2006.
34. Swartz MN. Hospital-acquired infections: diseases with increasingly limited therapies. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994 Mar; 91(7): 2420–2427.
35. Tavares W. Resistência é o maior desafio para antibacterianos. *Soc Brasil Infect*. 2005; 3:11.
36. Farlex. Antibiotics. The Free Dictionary by Farlex - Medical Dictionary. [Citado em: agosto 2014]; Disponível em: <http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/>.
37. Pankey G, Sabath L. Clinical relevance of bacteriostatic *versus* bactericidal mechanisms of action in the treatment of Gram positives bacterial infections. *Oxford Journals*. 2004 Mar; 38: 864-865.
38. Anvisa. Mecanismos de ação e Resistência Microbiana. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. [Citado em: agosto 2014]; Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controlere/rede_rm/cursos/rm_controlere/opas_web/modulo3/mecanismos.htm.
39. Guilhelmelli F, Vilela N, Albuquerque P, Derengowski S, Silva-Pereira I, Kyaw CM. Antibiotic development challenges: the various mechanisms of action of antimicrobial peptides and of bacterial resistance. *Front Microbiol*. 2013 Dec; 9: 4-353.

40. Michigan State University. Resistance mechanisms. Antimicrobial Resistance Learning Site. 2011. [Citado em: agosto 2014]; Disponível em: <http://amrls.cvm.msu.edu/pharmacology/antimicrobials/mode-of-action>
41. Kohanski MA, Dwyer DJ, Collins JJ. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nat Rev Microbiol*. 2010 Jun; 8(6):423-35.
42. Masters PA, O'Bryan TA, Zurlo J, Miller DQ, Joshi N. Trimethoprim-sulfamethoxazole revisited. *Arch Intern Med*. 2003 Feb; 24;163(4):402-10.
43. Godreuil S, Leban N, Padilla A, Hamel R, Luplertlop N, Chauffour A, Vittecoq M, Hoh F, Thomas F, Sougakoff W, Lionne C, Yssel H, Missé D. Aedesin: Structure and Antimicrobial Activity against Multidrug Resistant Bacterial Strains. *PLoS One*. 2014 Aug; 27;9(8).
44. Alekshun MN, Levy SB. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*. 2007 Mar 23;128(6):1037-50.
45. Ammor MS, Flórez AB, van Hoek AH, de Los Reyes-Gavilán CG, Aarts HJ, Margolles A, Mayo B. Molecular characterization of intrinsic and acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria and bifidobacteria. *J Mol Microbiol Biotechnol*. 2008; 14(1-3):6-15.
46. Mulvey MR, Simor AE. Antimicrobial resistance in hospitals: how concerned should we be?. *CMAJ*. 2009 Feb; 17;180(4):408-15.
47. George F. Antibioterapia na Pneumonia Adquirida na Comunidade em Adultos Imunocompetentes. *DGS*. 2011 Dez; 045: 1-17
48. Fundação Portuguesa do Pulmão. 2012. [Citado em: agosto 2014]; Disponível em: <http://www.rcmpharma.com/actualidade/saude/09-11-12/fundacao-portuguesa-do-pulmao-alerta-para-prevalencia-da-pneumonia-em-por>
49. Portal da saúde. Vacinação. 2014. [Citado em: setembro 2014]; Disponível em: <http://www.portaldasaude.pt/portal/conteudos/informacoes+uteis/vacinacao/vacinacao.htm>.
50. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty Third Informational Supplement. 2013 Jan; 33(1): 100-23
51. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. 2013. [Citado em: junho 2014] Disponível em: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_v1.0_20131211.pdf

52. Baldo V, Cocchio S, Baldovin T, Buja A, Furlan P, Bertoncello C, Russo F, Saia M. A population-based study on the impact of hospitalization for pneumonia in different age groups. *BMC Infect Dis*. 2014 Sep 5;14(1):485.
53. Campos M. Temperatura baixa e ar seco aumentam a incidência de doenças respiratórias. 2012. [Citado em: agosto 2014]; Disponível em: <http://www.revistavigor.com.br/2012/06/21/temperatura-baixa-e-ar-seco-aumentam-a-incidencia-de-doencas-respiratorias/>.
54. Castro A, Carneiro A, Soares F. Avaliação crítica da mortalidade por pneumonia no Serviço de Medicina Interna, no Hospital Padre Américo – Vale do Sousa. *Med Int*. 2003;10(2): 139-132
55. Murray P, Rosenthal K, Kobayashi G, Pfaller U. *Medical Microbiology*, 4 ed. Mosby, EUA. 2002
56. Gordon RJ, Lowy FD. Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clin Infect Dis*. 2008 Jun 1;46:350-9
57. Ferreira, F. Sousa, João F. Sousa. *Microbiologia*. Vol. 2. Lidel- Edições Técnicas, 2000.
58. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Microbiologia Médica*. 6 ed. Elsevier. España, S.L.. 2009.
59. CDC. Laboratory Detection of Oxacillin/Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. 2010. [Citado em: setembro 2014]; Disponível em: <http://www.cdc.gov/mrsa/lab/lab-detection.html>.
60. Centers for Disease Control and Prevention. Morbidity and Mortality Weekly Report. [Citado em: Outubro 2014]; Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5126a1.htm>
61. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance (EARSS). Antimicrobial resistance surveillance in Europe. 2013. [Citado em: setembro 2014] Disponível em: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2012.pdf>
62. *Microbiologia*. Coloração diferencial de Gram. [Citado em: julho 2014]; Disponível em: <http://www.icb.ufmg.br/mic/index.php?secao=material&material=19>
63. bioMérieux. PREVI™ Color Gram. [Citado em: julho 2014] Disponível em: http://www.biomerieux.pt/servlet/srt/bio/portugal/dynPage?doc=PTG_CLN_PRD_G_PRD_CLN_186

64. bioMérieux. Manual de meios de cultura e suplementos. [Citado em: julho 2013]; Disponível em: [http://www.biomerieux.pt/servlet/srt/bio/portugal/dynPage?open=PTG CLN PRD&doc=PTG CLN PRD G PRD CLN 217&pubparams.sform=6&lang=pt](http://www.biomerieux.pt/servlet/srt/bio/portugal/dynPage?open=PTG_CLN_PRD&doc=PTG_CLN_PRD_G_PRD_CLN_217&pubparams.sform=6&lang=pt)
65. Becton Dickinson. BD Chocolate Agar with IsoVitaleX and Bacitracin. [Citado em: julho 2013]; Disponível em: <http://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8834>
66. BioRad. Staphylocoagulase/Broth (Detection of Coagulase). [Citado em: julho 2014]; Disponível em: <http://www.bio-rad.com/pt-br/sku/355-3544-staphylocoagulase-broth-detection-coagulase?parentCategoryGUID=LS5FXFHYP>

8. Anexos

Anexo I

Tabela 5 - Critérios CURB-65. Adaptado de (47).

<i>Fatores clínicos</i>	<i>Pontos</i>
Confusão	1
Urémia > 20mg/dL (>7mmol/L)	1
Frequência Respiratória ≥ 30 ciclos/min	1
Pressão arterial sistólica < 90 mm Hg ou diastólica < 60 mm Hg	1
Idade ≥ 65 anos	1
<i>Pontuação CURB-65</i>	<i>Recomendações</i>
0	Baixo risco: considerar tratamento em casa
1	Baixo risco: considerar tratamento em casa
2	Internamento em enfermaria
3	Pneumonia grave; hospitalizar e considerar internamento em cuidados intensivos
4 ou 5	

Tabela 6 - Critérios CRB-65. Adaptado de (47).

<i>Fatores clínicos</i>	<i>Pontos</i>
Confusão	1
Frequência Respiratória ≥ 30 ciclos/min	1
Pressão arterial sistólica < 90 mm Hg ou diastólica < 60 mm Hg	1
Idade ≥ 65 anos	1
<i>Pontuação CURB-65</i>	<i>Recomendações</i>
0	Baixo risco: considerar tratamento em casa
1 ou 2	Risco Intermédio: considerar referência ao hospital
3 ou 4	Risco elevado: referência urgente ao hospital

Anexo II

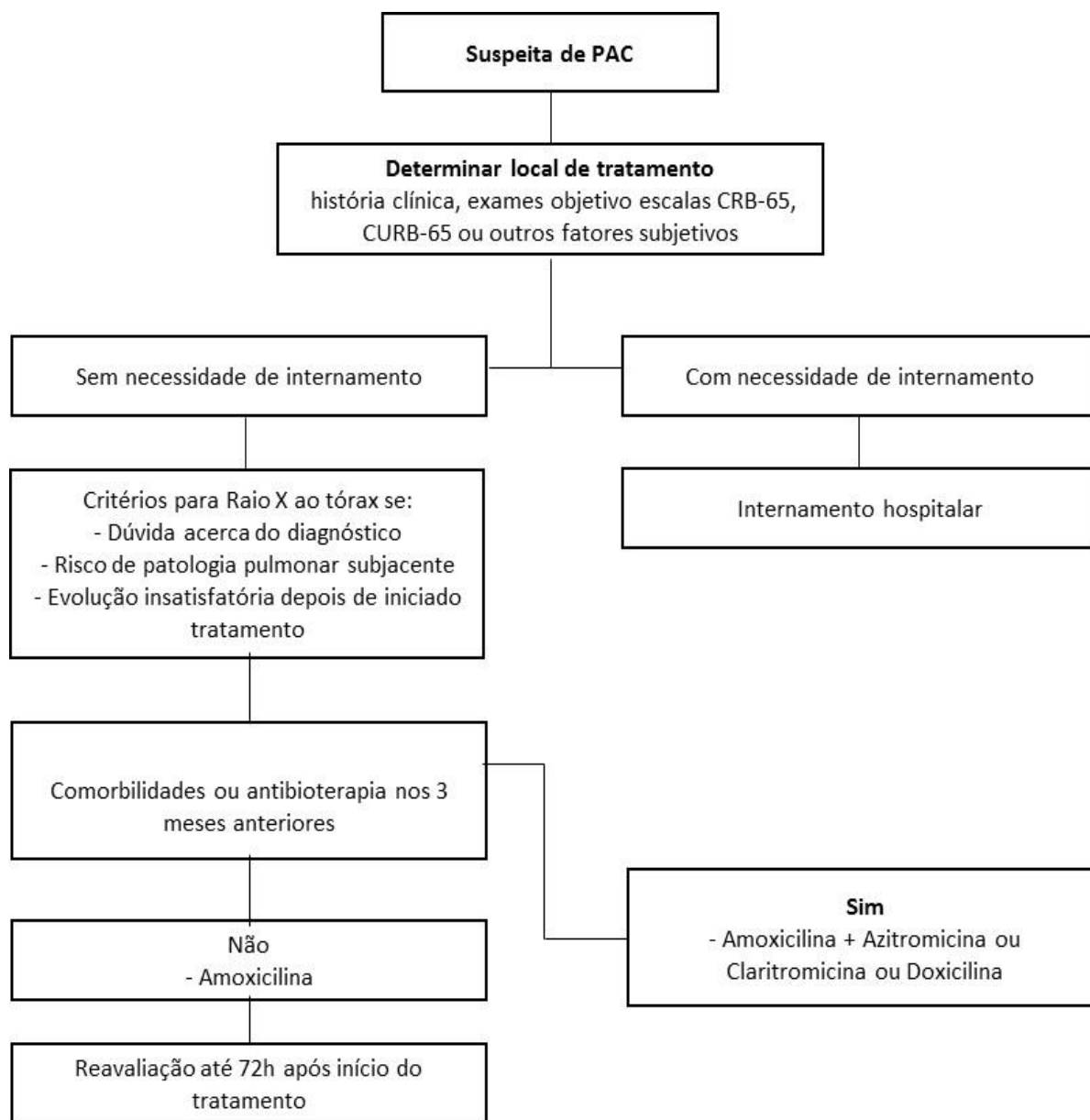


Figura 20 - Abordagem terapêutica ao doente com suspeita de PAC. Adaptado de (47).

Anexo III

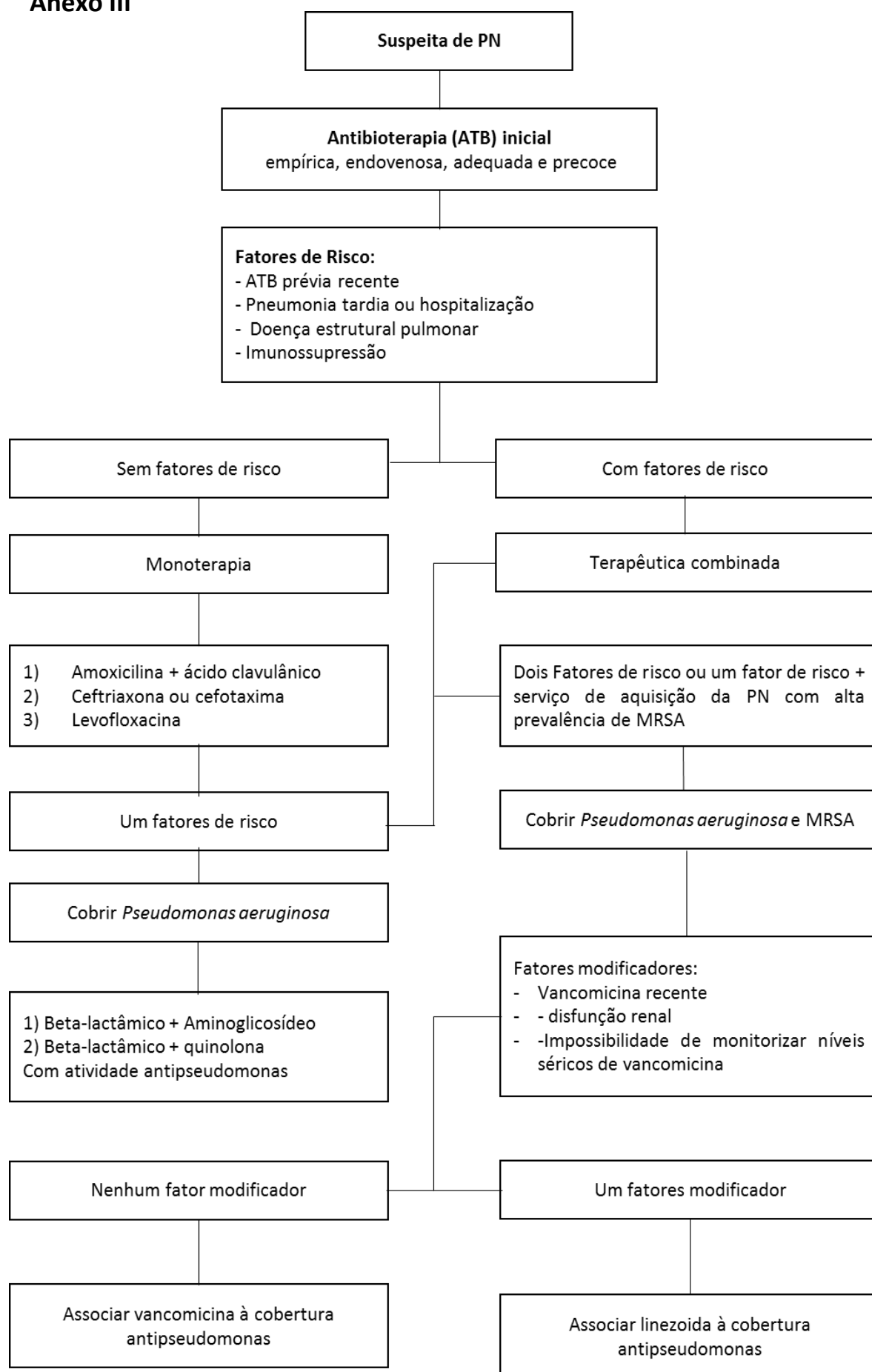


Figura 21 - Abordagem terapêutica ao doente com suspeita de PN. Adaptado de (6).

Anexo IV

- **Técnica de Coloração de Gram**

A coloração de Gram é uma técnica de coloração diferencial que consiste no tratamento sucessivo de um esfregaço, onde primeiramente é fixado pelo calor e de seguida corado com os reagentes cristal violeta, etanol-acetona e fucsina. Este método permite distinguir os dois principais grupos de bactérias por microscópio ótico usando uma objetiva de imersão (62).

O método da coloração de Gram consiste na capacidade que as paredes celulares das bactérias Gram positivas têm, ao contrário das bactérias Gram negativas, em reterem o corante primário, o cristal violeta no citoplasma durante um tratamento com etanol-acetona. Esta característica, da retenção ou não do corante primário deve-se principalmente à diferença na espessura da camada de peptidoglicano existente na parede bacteriana. O solvente, o etanol-acetona, tem a capacidade de dissolver a porção lipídica das membranas externas das bactérias Gram negativas e o complexo cristal violeta-iodo é removido, descorando as células. Por outro lado, o solvente desidrata as espessas paredes celulares das bactérias Gram positivas e provoca a contração dos poros do peptidoglicano, tornando-as impermeáveis ao complex cristal violeta-iodo, o corante primário é retido e as células permanecem coradas. Por fim, a amostra sofre outro tratamento com um corante secundário, a fucsina básica. Ao microscópio, as bactérias Gram positivas adquirem a coloração azul violeta e as Gram negativas adquirem a coloração vermelha (58,62,63).

Procedimento laboratorial:

- 1- Prepara uma lâmina de vidro com um fino esfregaço do produto a analisar e fixar à chama;
- 2- Cobrir a lâmina com o corante primário, cristal violeta durante 1 minuto e lavar com água corrente;
- 3- Descorar com solução de álcool-acetona por 30 segundos e lavar novamente com água corrente;
- 4- Corar com o segundo corante, fucsina durante 30 segundos.

- 5- Lavar a lâmina com água corrente, secar e observar ao microscópio (objetiva 100x)

Atualmente já existem no mercado diversos equipamentos automatizados que coram pela técnica de Gram, todos os tipos de amostras de forma rápida e padronizada. Estes aparelhos economizam reagente, permitem uma melhor diferenciação entre microrganismos, diminuem a probabilidade de uma contaminação cruzada e poupam tempo ao técnico de laboratório pois permite obter um número considerado de lâminas prontas a ser visualizadas em poucos minutos, vantagem também para o clínico que irá obter o resultado mais rapidamente e assim conseguir direcionar a melhor terapêutica ao doente (63).

Anexo V

- **Meios de cultura**

- Gelose Columbia + 5% sangue de carneiro (Refª. 43 041 bioMérieux)

A gelose de sangue é um meio de isolamento seletivo, que contém uma mistura de peptonas que permite o crescimento de microrganismos fastidiosos. A presença de sangue de carneiro, faz com que seja um meio altamente nutritivo e portanto adaptado à cultura da maior parte das espécies bacterianas, independentemente do seu metabolismo. Este meio permite ainda detetar a β -hemólise e a α -hemólise de determinadas bactérias (Tabela 7).

Tabela 7 - Composição do meio de cultura gelose columbia + 5% sangue de carneiro.

Peptona de caseína e de carne	10 g/L	Cloreto de sódio	5 g/L
Hidrolisado de proteína animal	10 g/L	Agar	13,5 g/L
Peptona de coração	3 g/L	Sangue	50 mL
Amido de milho	1 g/L		

- Gelose Chocolate com IsoVitalex e bacitracina (Refª. 254046 Becton Dickinson)

A gelose de chocolate é um meio enriquecido, não seletivo obtido a partir de gelose de Columbia, pelo aquecimento da mistura com sangue a 80°C (hemólise dos eritrócitos). Favorece o crescimento dos *Haemophilus sp.* e inibe o crescimento dos Gram positivas (Tabela 8).

Tabela 8 - Composição do meio de cultura gelose chocolate com IsoVitalex e bacitracina.

Hidrolisado pancreático de caseína	7,5 g	Fosfato dihidrógeno de potássio	1,0
Peptona de carne seleccionada	7,5	Cloreto de sódio	5,0
Amido de milho	1,0	Ágar	14,0
Fosfato dipotássio de hidrogénio	4,0	Bacitracina	50,000 UI
Hemoglobina	10,0	IsoVitalex	10,0 mL

- Gelose Cled (Refª. 43 331 bioMérieux)

A gelose Cled permite diferenciar as bactérias que fermentam a lactose das que não fermentam (indicador azul de bromotimol). As bactérias lactose (+) produzem colónias amarelas pálidas ou amarelas, por acidificação do meio. As bactérias que não fermentam a lactose produzem colónias verdes, azuis ou incolores. A composição do meio previne a invasão de *Proteus*, devido aos baixos níveis de electrólitos.

Tabela 9 - Composição do meio de cultura gelose Cled.

Peptona de gelatina	4 g/L	L. cistina	0,128 g/L
Peptona de caseína	4 g/L	Azul de bromotimol	0,02 g/L
Extrato de carne	3 g/L	Agar	415g/L
Lactose	10 g/L		

Anexo VI

- **Catalase** (Ref^a.55 561 bioMérieux®).

A presença de catalase é detetada nos microrganismos por uma libertação de O₂ a partir de água oxigenada. A presença de um agente espessante e de um corante facilitam a observação da emissão gasosa.

Distingue *Staphylococcus sp.* que são catalase positiva, de *Streptococcus sp.* que são catalase negativa.

- **Oxidase** (Ref^a.55 635 bioMérieux®).

Teste diferencial na identificação das bactérias Gram negativas que usam a enzima citocromo oxidase. O reagente da oxidase em contacto com as bactérias é oxidado ficando da cor roxa. *Pseudomonas* e *Neisseria* são oxidase positiva enquanto alguns *Enterobacteriaceae* são oxidase negativas.

- **Coagulase** (Ref^a 355-3544 BioRad)

Teste diferencial para determinar a identificação do *Staphylococcus aureus*. O *Staphylococcus aureus* produz a enzima coagulase que é capaz de causar a coagulação do plasma, o qual permite fazer a sua diferenciação dos restantes *Staphylococcus* coagulase negativa.

Anexo VII

Cartas para antibiograma VITEK 2 – technology, segundo as recomendações EUCAST

-AST GN203 (Refª. 412864 bioMérieux)

Permite identificar todas as bactérias Gram negativas

-AST N222 (Refª. 413083 bioMérieux)

Permite determinar a sensibilidade das *Pseudomonas* e outros bacilos Gram negativos não fermentadores aos antibacterianos

-AST N192 (Refª. 412602 bioMérieux)

Permite determinar a sensibilidade das *Enterobacteriaceae* aos antibacterianos

-AST P619 (Estafilococos) (Refª. 411944 bioMérieux)

Permite determinar a sensibilidade dos *Staphylococcus* aos antibacterianos

-AST P586 (Enterococos sp, *S. agalactia*) (Refª. 22276 bioMérieux)

Permite determinar a sensibilidade dos *Enterococcus sp*, *Streptococcus agalactia* aos antibacterianos

-AST ST01 (Estreptococos) (Refª. 412610 bioMérieux)

Permite determinar a sensibilidade dos *Streptococcus sp.*, *Streptococcus pneumonia*

-AST GP69 (Refª. 22304 bioMérieux)

Permite identificar todas as bactérias Gram positivas.